

Isolierung von Flavonol-3-glykosiden
aus *Cereus grandiflorus* Mill. und Synthese
von Polyhydroxy-flavon-3-glykosiden

Hans-Günter Arndt

1965

Isolierung
von Flavonol-3-glykosiden aus Cereus grandiflorus Mill.
und Synthese
von Polyhydroxy-flavon-3-glykosiden

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Hans-Günter Arndt
aus
Hildesheim

Juni 1965

Berichterstatter: Professor Dr. L. H ö r h a m m e r

Tag der mündlichen Prüfung: 28.7.65

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
E I N L E I T U N G	1
A L L G E M E I N E R T E I L	2
I. Isolierung und Identifizierung der Flavonolglykoside aus den Blüten von <i>Cereus grandiflorus</i>	2
1. Isolierung der Glykoside	3
2. Säulenchromatographische Trennung der Glykoside	5
3. Identifizierung der Glykoside	7
a) Identifizierung von Glykosid D	7
b) Identifizierung von Glykosid C 1	10
c) Identifizierung von Glykosid C 2	12
d) Identifizierung von Glykosid B 1	13
e) Identifizierung von Glykosid F	14
f) Identifizierung von Glykosid B 2	16
g) Versuche zur Strukturaufklärung der Glykoside G 1 und G 2	19
II. Synthese von Polyhydroxy-flavon-3-glykosiden	21
1. Allgemeines	21
2. Ausgangsprodukte für die Glykosidsynthese	27
3. Darstellung von Isorhamnetin- und Quercetin-3- glykosiden	28
a) Darstellung der 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin- und 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glykoside	28
b) Entbenzylierung der 4',7-Dibenzyl-flavonol- glykoside	29
c) Vergleich der synthetisierten und isolierten Glykoside	31
E X P E R I M E N T E L L E R T E I L	36
I. Chromatographie	36
1. Säulenchromatographie	36
2. Dünnschichtchromatographie	36
3. Papierchromatographie	37
4. Sprühreagentien	37



II. Isolierung und Trennung der Flavonolglykoside . .	38
III. Allgemeine chemische und physikalische Untersuchungen	40
1. Farbreaktionen	40
2. Hydrolysen	41
3. Zuckernachweise	44
4. Acetylierungen	45
5. Methylierungen	46
6. Enzymatische Versuche	48
7. Schmelzpunkte	50
8. IR-Spektren	50
9. UV-Spektren	51
10. Mikroanalysen	51
IV. Synthese der Polyhydroxy-flavon-3-glykoside . . .	53
1. Quercetinpentaacetat	53
2. 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat	53
3. 4',7-Dibenzyl-quercetin	54
4. 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin	54
5. Acetobromzucker	55
6. Glykosidierung von 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und Entbenzylierung der 4',7-Dibenzyl-isorham- netin-3-glykoside	58
7. Glykosidierung von 4',7-Dibenzyl-quercetin und Entbenzylierung der 4',7-Dibenzyl-quercetin-3- glykoside	66
V. Anhang: IR-Spektren	72
L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	79



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555224_0027

E I N L E I T U N G

Ob und in welchem Maße die in herzwirksamen Drogen vorkommenden Flavonolglykoside an der pharmakologischen Gesamtwirkung beteiligt sind, ist bisher trotz mehrfacher Untersuchungen noch nicht eindeutig geklärt. Zur Durchführung pharmakologischer Versuche sind entsprechende Reinglykoside erforderlich.

Nachdem in früheren Versuchen gefunden wurde, daß die Blüten von *Cactus grandiflorus* durch besonders hohen Gehalt an Flavonolglykosiden ausgezeichnet sind, sollten im ersten Teil der vorliegenden Arbeit diese Glykoside isoliert und strukturell aufgeklärt werden. Wie sich im Laufe der Untersuchungen herausstellte, handelte es sich vorwiegend um C3-Glykoside des Quercetins, Isorhamnetins und Kämpferols.

Da bisher nur wenige natürlich vorkommende Flavonolglykoside synthetisch zugänglich waren, sollte im zweiten Teil der Arbeit versucht werden, die isolierten Glykoside zu synthetisieren. Damit wäre nicht nur ein einfacher, von Pflanzenmaterial unabhängiger Weg zur Gewinnung reiner Flavonolglykoside eröffnet, sondern gleichzeitig auch der endgültige Struktur-
beweis einiger schon lange bekannter Glykoside der Flavonreihe geliefert.

ALLGEMEINER TEIL

I. Isolierung und Identifizierung der Flavonolglykoside aus den Blüten von *Cereus grandiflorus* Mill.

Bei Flores Cacti grandiflori^{*)} handelt es sich um die Blüten der in Mexiko und Zentralamerika beheimateten und bei uns in Gewächshäusern kultivierten Cactacee "Königin der Nacht" (*Cereus grandiflorus* Mill.), über deren Herzwirksamkeit schon sehr früh berichtet wurde¹⁾.

Nach den Angaben der Literatur enthält die Pflanze Verbindungen, die sowohl Alkaloid- als auch Glykosidreaktionen geben²⁾³⁾⁴⁾. Andere Untersuchungen sprechen von digitalisartigen, herzwirksamen Stoffen, die nur in den frischen Stengeln und Blüten vermutet werden, während die getrocknete Droge pharmakologisch inaktiv sein soll⁵⁾. Da unsere orientierenden Versuche mit der Droge das Vorkommen von sieben Flavonolglykosiden gezeigt haben, wäre es denkbar, daß diese eventuell in Beziehung zu der beschriebenen Herzwirkung stehen. Zusammen mit anderen, bisher unbekannten herzwirksamen Verbindungen wäre dabei an eine additive cardiotrope Wirkung zu denken, wie sie auch für die Flavonolglykoside in *Crataegus* und *Convallaria* angenommen wird. Außerdem hat man selbst bei reinen Flavonoiden eine günstige Wirkung auf den Herzmuskel und den Kreislauf von Säugetieren nachweisen können⁶⁾⁷⁾.

*) Im Erg.Bd. 5 des DAB als Droge geführt.

1. Isolierung der Glykoside

Die Droge wurde zur Entfernung der zahlreich vorhandenen wachsartigen Stoffe mit Chloroform und Äther erschöpfend extrahiert und anschließend mehrmals mit Methanol ausgekocht. Die vereinigten methanolischen Auszüge engten wir im Vakuum bis zu einer dicken, sirupösen Konsistenz ein und lösten den Rückstand in heißem Wasser. Beim Aufbewahren der Lösung im Eisschrank fielen Ballaststoffe aus, die abgesaugt und nach chromatographischer Prüfung verworfen wurden. Die klare braune Lösung schüttelten wir mit Butanol aus, nachdem durch eine fraktionierte Ausschüttelung mit Äther-Essigester, Essigester und Essigester-Methanol eine weitere Trennung der Glykoside nicht erreicht werden konnte. Die Butanollösungen wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand im Exsikkator getrocknet. Wir erhielten so in einer Ausbeute von 1.5% ein braunes, sprödes Pulver, das nach dem Polyamid-Dünnschichtchromatogramm (siehe Abbildung 1, S. 4) ein Gemisch von Flavonolglykosiden (8) darstellte. Die Abbildung gibt außerdem die chromatographische Lage der später isolierten reinen Glykoside (1-7) wieder.

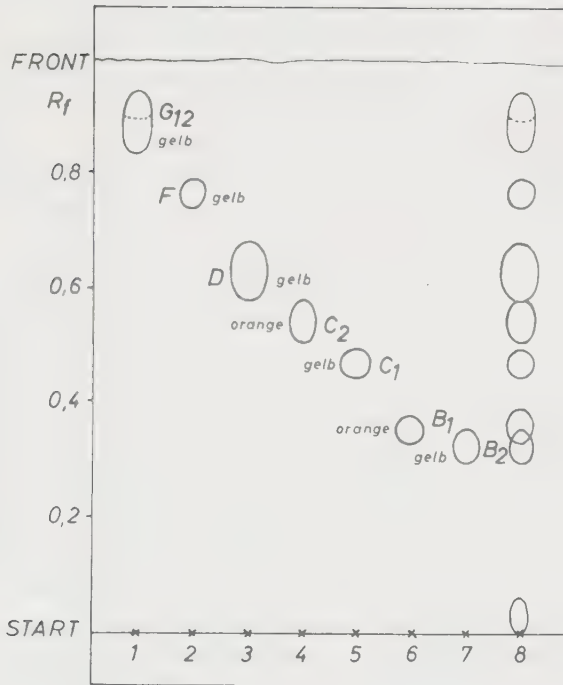


Abb. 1

Dünnschichtchromatogramm der Flavonolglykoside von Flores Cacti
grandiflori

Adsorbens: Polyamid Merck

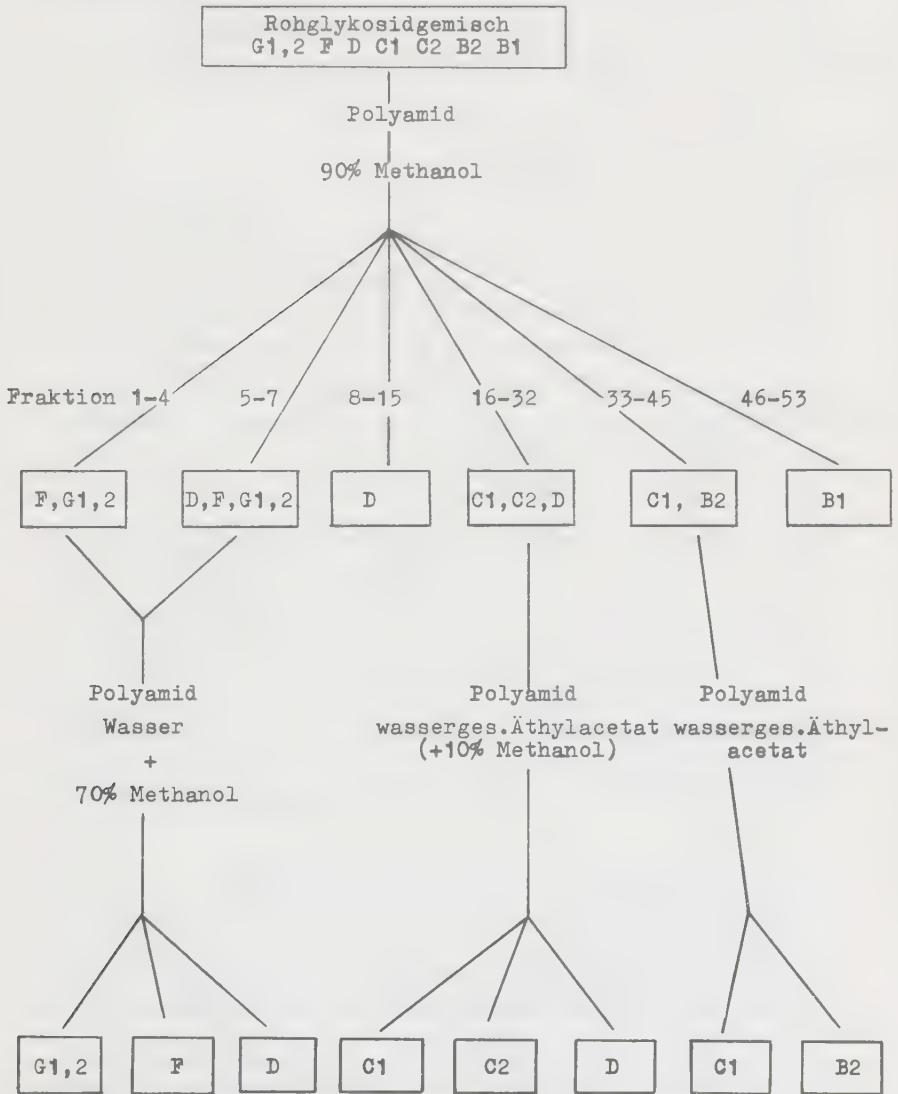
Laufmittel: 90% Methanol

Sprühmittel: bas. Bleiacetat

2. Säulenchromatographische Trennung der Glykoside

Die erste grobe Auftrennung der Glykoside erfolgte, wie das Schema auf Seite 6 zeigt, an Polyamidsäulen mit 90% Methanol als Elutionsmittel. Dabei wurden unter dem UV-Licht als Vorlauf zwei breite blaue Zonen beobachtet, denen sich drei dunkelbraune Zonen anschlossen. Wir fingen diese in Fraktionen zu 150 ml auf und kontrollierten den Verlauf der Trennung durch Polyamid-Dünnschichtchromatographie. Die Glykoside ließen sich in der Reihenfolge G1,2, F,D,C1,C2,B2,B1 aus der Säule eluieren. Hierbei konnte die Anwesenheit von Glykosid F und B2 erst nach der Säulentrennung festgestellt werden. Beim Übersichtschromatogramm des Rohglykosidgemisches waren sie infolge ihrer sehr geringen Konzentration von den anderen Stoffen überdeckt worden. Es zeigte sich, daß die Auftrennung nicht vollständig war. Die Hauptmenge der Glykoside lag noch als ein Gemisch von zwei oder drei Stoffen vor. Die weitere Trennung des Glykosidgemisches F,G1,2 geschah ebenfalls an einer Polyamidsäule. Wir eluierten zunächst mit Wasser, wobei die Glykoside G1,2 vorliefen. Anschließend wurde mit 70% Methanol nacheeluiert und auf diese Weise die Glykoside F und G1,2 als reine Fraktionen erhalten. Ebenso konnten die Glykoside D, F und G1,2 getrennt werden. Auch das Gemisch der Glykoside C1, C2 und D fraktionierten wir an einer Polyamidsäule mit wassergesättigtem Äthylacetat. Dabei erschien Glykosid C1 als erstes Glykosid im Eluat, während Glykosid D und C2 nachfolgten. Nachdem die Fraktionen mit Glykosid C1 aufgefangen waren, wurde dem Elutionsmittel 10% Methanol zugesetzt, um den Durchlauf von Glykosid D und C2 zu beschleunigen. Die Glykoside C1 und B2 trennten wir ebenfalls an einer Polyamidsäule mit wassergesättigtem Äthylacetat, wobei B2 vorauslief. Die reinen Fraktionen wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und die Rückstände aus geeigneten Lösungsmitteln mehrmals umkristallisiert. Im folgenden Schema ist der Trennungsgang im Detail dargestellt.

Schema der säulenchromatographischen Glykosidtrennung



Die Fraktionen der Glykoside G1,2 zeigten auf dem Chromatogramm unter dem UV-Licht noch einige blau fluoreszierende Substanzen. Wir reinigten deshalb die eingeeengte Glykosidlösung über eine Kieselgelsäule mit einer Mischung von Äthylacetat-Methanol-Wasser.

3. Identifizierung der Glykoside

Die Zugehörigkeit aller isolierten Stoffe zur Gruppe der Flavonglykoside ergab sich aus dem Reduktionstest nach WILLSTATTER und MALLISON⁸⁾, dem Tauböcktest⁹⁾¹⁰⁾, der Eisenchloridreaktion nach BRIGGS und LOCKER¹¹⁾ und dem Zirkon-Zitronensäure-Test nach HÖRHAMMER und HÄNSEL¹²⁾¹³⁾.

Die Identifizierung der einzelnen Glykoside erfolgte durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt mit authentischen Substanzen, Papier- und Dünnschichtchromatographie, UV- und IR-Spektren, Elementaranalyse und quantitative Hydrolyse.

Die Aglykone untersuchten wir chromatographisch und verglichen ihre Acetyl- und Methylprodukte mit authentischen Verbindungen. Um den Ort der Glykosidbindung festzustellen, wurden die Glykoside methyliert, die Methylprodukte hydrolysiert und die Methyläther identifiziert. Zum Nachweis der Zuckerkomponenten chromatographierten wir die Hydrolysenfiltrate zusammen mit den üblichen Monosacchariden. Zur Bestätigung überführten wir die Zucker in ihre Osazone und verglichen deren Schmelzpunkte mit authentischen Osazonen.

a) Identifizierung von Glykosid D (Narcissin)

Glykosid D konnten wir in einer Ausbeute von 1.6 g aus der Saule gewinnen. Es kristallisierte aus 80% Äthanol und Wasser in hellgelben Nadeln mit 3 Mol Kristallwasser und ergab einen Schmelzpunkt von 179 - 181°C. Der Trockenverlust bei 110°C im Vakuum betrug 7.75% (ber. 7.96%).

Die Farbe des Glykosids unter dem UV-Licht war braun, mit basischem Bleiacetat besprüht gelb. Auf Grund dieser

Fluoreszenz und der Lage der UV-Maxima bei 255 und 358 m μ mußte es sich bei Glykosid D um ein Flavonolglykosid handeln.

Durch salzsaure Hydrolyse erhielten wir eine gelbe Substanz, die auf dem Chromatogramm in der gleichen Höhe wie Isorhamnetin lag und in seinen UV-Maxima (256 und 370 m μ) mit diesem übereinstimmte. Der Schmelzpunkt des Aglykons betrug nach dem Umkristallisieren aus Methanol 304 - 305°C, der Mischschmelzpunkt mit Isorhamnetin ergab keine Depression.

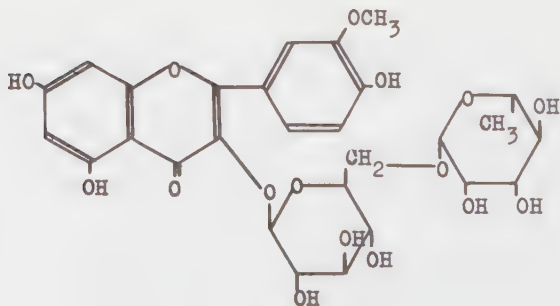
Bei der Acetylierung des Aglykons erhielten wir ein Tetraacetat vom Schmelzpunkt 206 - 208°C, das im Mischschmelzpunkt mit Isorhamnetinacetat identisch war. Das Methylierungsprodukt des Aglykons mit Dimethylsulfat zeigte einen Schmelzpunkt von 159 - 161°C. Es erwies sich im Mischschmelzpunkt und auf dem Papierchromatogramm (R_f 0.86 BEW) identisch mit 3,7,3',4'-Tetramethylquercetin, das man durch 30-stündige Methylierung von Quercetin mit Dimethylsulfat erhält. Damit war das Aglykon als 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon (Isorhamnetin) identifiziert.

Zur weiteren Charakterisierung des Glykosids wurde eine quantitative Hydrolyse durchgeführt. Diese ergab einen Aglykonanteil von 49.6%, der auf das Vorliegen eines Diglykosids schließen ließ. Das Filtrat der Hydrolyse verwendeten wir nach Neutralisation zum Zuckernachweis, indem wir die Lösung im System Butanol-Pyridin-Wasser chromatographierten.

Nach dem Besprühen mit Anilinphthalatlösung zeigten sich zwei Flecken, die im R_f -Wert und in der Farbe mit Glucose und Rhamnose übereinstimmten. Der Rest des Hydrolysenfiltrates wurde zur Darstellung der Osazone benutzt. Die Trennung des Mischosazones konnte durch die verschiedene Löslichkeit in Aceton durchgeführt werden. Die Schmelzpunkte von Rhamnosazon (Fp: 178 - 179°C) und Glucosazon (Fp: 204 - 206°C) stimmten mit den authentischen Substanzen (Fp: 179 - 182°C und 206 - 208°C) überein.

Zum Nachweis der Zuckerstellung führten wir den Zirkon-Zitronensäure-Test durch. Das positive Ergebnis deutete auf eine Glykosidierung am C3-Hydroxyl hin. Das Glykosid wurde nun nach FOX, SAVAGE und WENDER¹⁴⁾ partiell hydrolysiert und die Hydrolysenlösung in ÄAW chromatographiert. Neben unverändertem Glykosid D und Isorhamnetin konnten wir anhand von Testsubstanzen Isorhamnetin-3-glucosid nachweisen.

Bei der Essigsäure-Hydrolyse nach ZEMPLEN und GERECZ¹⁵⁾, die die Abspaltung eines Disaccharids bewirkt, ohne daß dieses vollständig in die einzelnen Zuckerkomponenten gespalten wird, gelang uns der papierchromatographische Nachweis von R u t i n o s e neben Rhamnose und Glucose. Zur Klärung der Zuckerstellung methylierten wir das Glykosid mit Diazomethan und hydrolysierten das entstandene Methylprodukt. Aus Äthanol erhielten wir gelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 192 - 193°C. Die Substanz war identisch mit 5,7,3',4'-Tetramethyl-quercetin, das man bei der Diazomethanmethylierung und anschließenden Hydrolyse von Rutin erhält. Der Mischschmelzpunkt betrug 192°C. Damit war bewiesen, daß beide Zucker als Disaccharid, und zwar als 6(α -L-Rhamnosyl)-D-glucosid (Rutinosid) am C3-Hydroxyl gebunden waren. Glykosid D ist demnach I s o r h a m n e t i n - 3 - r u t i n o s i d .



Dieses Glykosid wurde 1956 von KUBOTA und HASE¹⁶⁾ aus den gelben Blütenblättern von *Narcissus tazetta* L. var. *chinensis* isoliert und Narcissin genannt. Weitere Isolierungen erfolgten durch KOTAKE und ARAKAWA¹⁷⁾ aus den Pollen von *Lilium auratum* Lindle und durch PROBST¹⁸⁾ aus *Herniaria glabra* L.. Das IR-Spektrum des *Herniaria*-Narcissins war identisch mit dem Spektrum von Glykosid D (siehe Seite 74).

b) Identifizierung von Glykosid C1 (Isorhamnetin-3-mono- β -D-galactosid)

Wir erhielten 500 mg reines Glykosid C1, das aus Äthanol in fahlgelben Nadeln mit 2 Mol Wasser kristallisierte. Der Trocknungsverlust bei 110°C im Vakuum betrug 6.22% (ber. 6.99%). Das Glykosid sinterte bei 212 - 215°C, wobei zwischen 225 - 230°C aus dem Sinterprodukt Nadeln entstanden, die einen scharfen Schmelzpunkt von 267 - 269°C ergaben.

Die Fluoreszenz des Glykosids unter dem UV-Licht deutete ebenso wie die Lage der UV-Maxima (255 und 358 m μ) auf das Vorliegen eines Flavonglykosids hin.

Bei der Hydrolyse mit 5% Salzsäure erhielten wir eine gelbe Substanz, die im R_f -Wert, im Schmelzpunkt, sowie im UV- und IR-Spektrum mit *I s o r h a m n e t i n* identisch war. Auch das Acetat und Methylprodukt des Aglykons stimmte mit den entsprechenden Isorhamnetinderivaten überein.

Bei der quantitativen Hydrolyse erhielten wir einen Aglykonanteil von 66%, der zusammen mit den R_f -Werten im BEW und AAW das Vorliegen eines Monoglykosids bestätigte. Im Filtrat der quantitativen Hydrolyse konnten wir durch chromatographischen Vergleich mit Zuckern *G a l a c t o s e* nachweisen. Das Osazon lieferte nach zweimaligem Umkristallisieren aus verdünntem Äthanol einen Schmelzpunkt von 202°C und ergab mit authentischem Galactosazon (F_p : 203 - 204°C) keine Depression.

Als Zuckerverknüpfungsstelle war wegen des positiven Zirkon-Zitronensäure-Tests das C3-Hydroxyl wahrscheinlich. Zum Be-

weis wurde das Glykosid mit Diazomethan methyliert und das Methylierungsprodukt hydrolysiert. Dabei erhielten wir gelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von $192 - 193^{\circ}\text{C}$, die im Mischschmelzpunkt mit dem entsprechenden Methylierungsprodukt von Glykosid D und 5,7,3',4'-Tetramethylquercetin keine Depression zeigten.

Für Glykosid C1 ergibt sich demnach die Struktur eines Isorhamnetin- β -mono- β -D-galactosids. Da dieses Glykosid bisher in der Literatur noch nicht beschrieben worden ist, wollen wir ihm den Namen Cacticin geben.

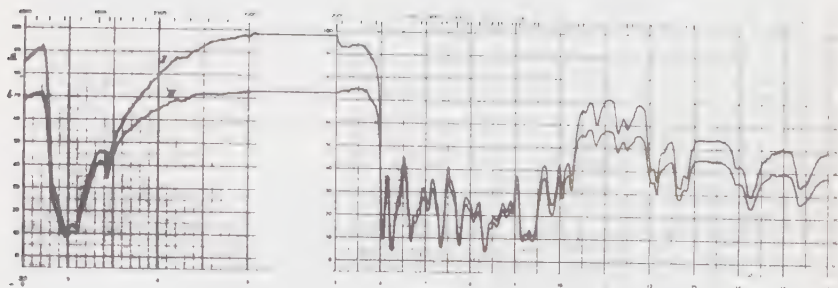
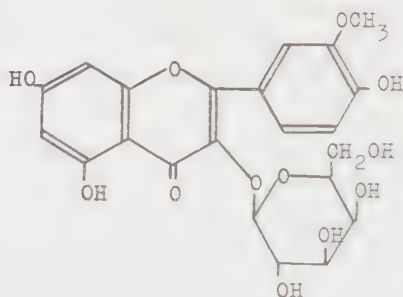


Abb. 2

IR-Überlagerungsspektrum von Glykosid C 1 (II) und synthetischem Isorhamnetin-3-galactosid (I)

c) Identifizierung von Glykosid C2 (Rutin)

Glykosid C2 konnten wir aus der Säule in einer Ausbeute von 550 mg erhalten. Es kristallisierte aus 50% Äthanol mit 3 Mol Kristallwasser in hellgelben Nadeln, die einen Schmelzpunkt von 189 - 190°C ergaben. Der Trocknungsverlust bei 110°C im Vakuum betrug 7.87% (ber. 9.15%).

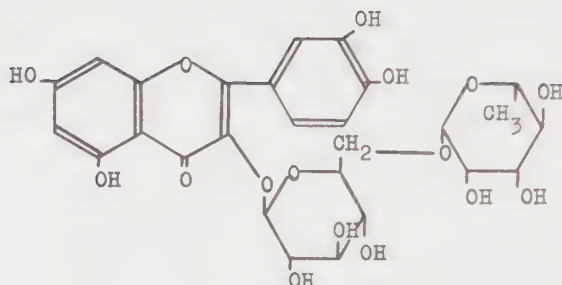
Die braune Fluoreszenz des Glykosids unter dem UV-Licht und die orange-rote Färbung nach dem Besprühen mit basischem Bleiacetat ließ im Zusammenhang mit den UV-Maxima bei 255 und 355 mμ auf das Vorliegen eines Flavonolglykosids schließen, bei dem sich zwei Hydroxylgruppen des Seitenphenyls in o-Stellung befinden.

Bei der Hydrolyse mit 5% Salzsäure erhielten wir eine gelbe Substanz, die in den R_F-Werten, im Schmelzpunkt und im Mischschmelzpunkt mit Q u e r c e t i n (Fp: 310 - 311°C) identisch war. Ebenso stimmten das Acetat (Fp: 186 - 188°C) und das Methylprodukt (Fp: 159 - 161°C) des Aglykons mit den Werten der Literatur überein.

Die quantitative Hydrolyse des Glykosids ergab einen Aglykonanteil von 48.7% (ber. für Rutin 49.5%). Bei einer Hydrolyse nach ZEMPLEN und GEREZ¹⁵⁾ mit 10% Essigsäure wurde im Filtrat papierchromatographisch R u t i n o s e neben freier Glucose und Rhamnose nachgewiesen.

Für das C3-Hydroxyl als Zuckerverknüpfungsstelle sprach der positive Zirkon-Zitronensäure-Test, Diese Vermutung konnte durch die Darstellung des 5,7,3',4'-Tetramethylquercetins (Fp: 192 - 193°C) bestätigt werden.

Glykosid C2 war damit als Q u e r c e t i n - 3 - β -
[α - L - r h a m n o s y l - (1 → 6)] - D - g l u -
c o s i d (R u t i n) identifiziert. Ein Vergleich der IR-Spektren beider Substanzen zeigte keine Unterschiede.



d) Identifizierung von Glykosid B 1 (Hyperosid)

Bei der Säulentrennung erhielten wir 250 mg reines Glykosid B 1, das aus 50% Äthanol in fahlgelben Nadeln mit 2 Mol Wasser kristallisierte und einen Schmelzpunkt von 224 - 226°C ergab. Der Trocknungsverlust bei 110°C im Vakuum betrug 6.98% (ber. 7.2%).

Wie bei Glykosid C2 war auf Grund der Fluoreszenz im UV-Licht und der UV-Maxima bei 258 und 360 mμ das Vorliegen eines Quercetinglykosides wahrscheinlich.

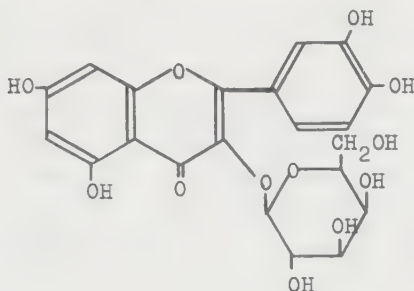
Bei der salzsauren Hydrolyse erhielten wir dann eine Substanz, die in allen Werten mit Quercetin und Aglykon C 2 identisch war. Die quantitative Hydrolyse ergab 61.2% Aglykon, ein Wert, der das Glykosid zusammen mit den hohen R_f -Werten in BEW und ÄAW eindeutig als Monosaccharid charakterisierte.

Im Filtrat der Hydrolyse konnten wir papierchromatographisch Galactose nachweisen. Das dargestellte Galactosazon hatte einen Schmelzpunkt von 199°C. Der Mischschmelzpunkt mit authentischem Galactosazon (Fp: 203 - 204°C) lag bei 201 - 203°C.

Durch den positiven Zirkon-Zitronensäure-Test war als Verknüpfungsstelle für den Zucker das C 3-Hydroxyl angedeutet. Den Beweis brachte die Methylierung von Glykosid B 1 mit Diazomethan und anschließende Hydrolyse, bei der wir wie bei Rutin 5,7,3',4'-Tetramethylquercetin (Fp: 191 - 192°C) erhielten.

Damit war Glykosid B 1 als **Q u e r c e t i n - 3 - m o n o - β - D - g a l a c t o s i d** identifiziert.

Ein Mischschmelzpunkt mit authentischem Hyperosid (Fp: 228 - 230°C) lag bei 225 - 227°C. Die IR-Spektren beider Substanzen stimmten in der Lage der charakteristischen Banden und im sonstigen Kurvenverlauf überein.



e) Identifizierung von Glykosid F (Kämpferol-3,7-di- β -L-rhamnosid)

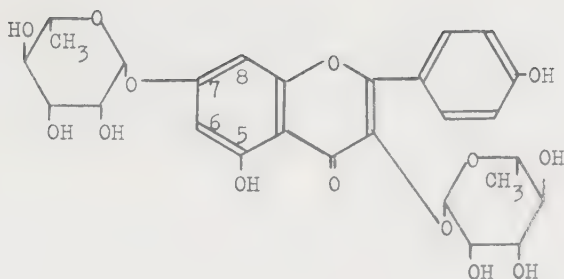
Wir erhielten 95 mg reines Glykosid F mit einem Schmelzpunkt von 189 - 190°C, das aus 60% Äthanol mit 4 Mol Wasser kristallisierte. Der Trocknungsverlust bei 110°C im Vakuum betrug 10.89% (ber. 11.1%).

In Analogie zu den anderen Glykosiden konnten wir aus der Fluoreszenz im UV-Licht und der Lage der UV-Maxima bei 265 und 343 m μ auf ein Flavonolglykosid schließen. Dieses lag in BEW und ÄAW auf der gleichen Höhe wie authentisches Kämpferol-3,7-dirhamnosid.

Die Hydrolyse mit 5% Salzsäure lieferte eine Substanz mit einem Schmelzpunkt von $277 - 278^{\circ}\text{C}$, die im Mischschmelzpunkt mit K ä m p f e r o l (Fp: $279 - 280^{\circ}\text{C}$) keine Depression zeigte. Das Acetat des Aglykons hatte einen Schmelzpunkt von $180 - 182^{\circ}\text{C}$. Der Schmelzpunkt von Kämpferoltetraacetat wird in der Literatur mit $178 - 182^{\circ}\text{C}$ angegeben. Weiterhin führten die chromatographischen Vergleiche in BEW und ÄAW ebenso wie das UV-Spektrum mit seinen Maxima bei 267 und 365 m μ und das IR-Spektrum zur Identität mit Kämpferol.

Bei der quantitativen Hydrolyse erhielten wir 47.8% Aglykonanteil. Als Zucker konnten wir nur R h a m n o s e nachweisen. Sein Osazon hatte einen Schmelzpunkt von $178 - 181^{\circ}\text{C}$ und ergab mit authentischem Rhamnosazon (Fp: $179 - 182^{\circ}\text{C}$) keine Depression. Da es sich bei dem Glykosid nach dem Ergebnis der quantitativen Hydrolyse um ein Disaccharid handelte und auf Grund des papierchromatographischen Vergleichs Kämpferol-3,7-dirhamnosid zu vermuten war, mußte ein Rhamnosemolekül am C3-Hydroxyl, das zweite am C7-Hydroxyl gebunden sein. Wir führten daher eine partielle Hydrolyse durch. Beim Chromatographieren der Hydrolysenlösung fanden wir außer Kämpferol und dem Ausgangsprodukt noch Kämpferol-3-rhamnosid und Kämpferol-7-rhamnosid. Zum weiteren Beweis methylierten wir das Glykosid mit Diazomethan und hydrolysierten das entstandene Produkt. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol erhielten wir einen Methyläther vom Schmelzpunkt $316 - 318^{\circ}\text{C}$. ZEMPLÉN¹⁹⁾ gibt für das 5,4'-Dimethylkämpferol einen Schmelzpunkt von $316 - 318^{\circ}\text{C}$ an.

Damit ist Glykosid F als K ä m p f e r o l - 3 , 7 - d i - β - L - r h a m n o s i d identifiziert. Ein Mischschmelzpunkt mit der von STICH²⁰⁾ aus Flores Tiliae isolierten und aufgeklärten Substanz ergab keine Depression.



f) Identifizierung von Glykosid B 2 (Kämpferol-3-mono-β-L-arabinosid)

Als Ergebnis der Säulentrennung erhielten wir 113 mg reines Glykosid B 2 mit einem Schmelzpunkt von 192 - 193°C. Es kristallisierte aus 50% Äthanol in blaßgelben Nadeln mit 1.5 Mol Kristallwasser und ergab einen Trockenverlust von 5.92% (ber. 6.05%).

Nach der Farbe des Glykosids unter dem UV-Licht und den UV-Maxima bei 267 und 353 mμ zu urteilen, handelte es sich bei Glykosid B 2 auch um ein Flavonolglykosid.

Die salzsaure Hydrolyse ergab eine Substanz, die in allen Werten mit K ä m p f e r o l und Aglykon F identisch war.

Bei der quantitativen Hydrolyse erhielten wir 66.2% Aglykonanteil, der ebenso wie die R_F-Werte in BEW und ÄAW auf ein Monoglykosid deutete. Das dargestellte Osazon vom Schmelzpunkt 165°C zeigte mit authentischem A r a b i n o s a z o n (Fp: 165 - 166°C) keine Depression. Bei der Methylierung mit Diazomethan und anschließender Hydrolyse erhielten wir ein Methylprodukt mit einem Schmelzpunkt von 145 - 146°C. Der Schmelzpunkt für das 5,7,4'-Trimethylkämpferol wird in der Literatur²¹⁾²²⁾ mit 148 - 150°C angegeben.

Somit ergibt sich für Glykosid B2 die Struktur eines K ä m p f e r o l - 3 - m o n o - L - a r a b i n o s i d s .

Da schon früher ein Kämpferol-3-arabinosid (Juglanin) mit einem Schmelzpunkt von 223 - 225°C von GEHRMANN²³⁾ aus *Aesculus Hippocastanum* L. und von NAKAOKI²⁴⁾ aus *Juglans regia* L. var. *chinensis* isoliert und beschrieben worden war und uns das Juglanin zur Verfügung stand, konnte ein Vergleich der beiden Kämpferol-3-arabinoside durchgeführt werden.

Dabei zeigte sich, daß das Juglanin in seinem R_f -Wert in BEW (0.81) und AAW (0.84) deutlich über unserem Glykosid (R_f : 0.73 und 0.76) lag. Da der Kristallwassergehalt, der Aglykonanteil, der Schmelzpunkt des Aglykons, des Methylierungsproduktes und des Zuckerosazons mit unserem Glykosid identisch waren, konnte der Unterschied nur durch eine andersartige Konfiguration der glykosidischen Bindung bedingt sein. Analoge Beobachtungen sind schon von HÖRHANDLER und Mitarb.²⁵⁾ bei Quercetin-3-arabinosiden aus *Filipendula ulmaria* L. und *Polygonum polystachyum* L. gemacht worden. Ein Vergleich der IR-Spektren des Glykosids B 2 und des Juglanins zeigte Unterschiede besonders in der Lage der C-OH- und C-O-Deformations- bzw. Valenzschwingungen bei 6,8 - 7,1 μ und 8,7 - 10 μ .

Bei enzymatischen Spaltungsversuchen mit einem Enzympräparat aus süßen Mandeln und einem Präparat aus Bierhefe konnten wir den Zuckeranteil unseres Glykosides ausschließlich mit Hefeglucosidasen abspalten, während das Juglanin nur durch das Emulsin angegriffen wurde. Unsere heutigen Kenntnisse auf dem Gebiet der Spezifität der Glykosidasen gehen dahin, daß Emulsin außer β -D-Glucosiden auch α -L-Arabinoside spaltet, während Hefeglucosidasen außer α -D-Glucosiden auch β -L-Arabinoside angreifen²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾ (siehe auch Seite 32).

Demnach müßte dem Juglanin die Struktur eines Kämpferol-3-mono- α -L-arabinosids zukommen, während unserem Glykosid die Struktur eines K ä m p f e r o l - 3 - m o n o - β - L - a r a b i n o s i d s zuzuschreiben wäre. Da dieses Glykosid in der Literatur noch nicht beschrieben worden ist, wollen wir ihm den Namen G r a n d i f l o r i n geben.

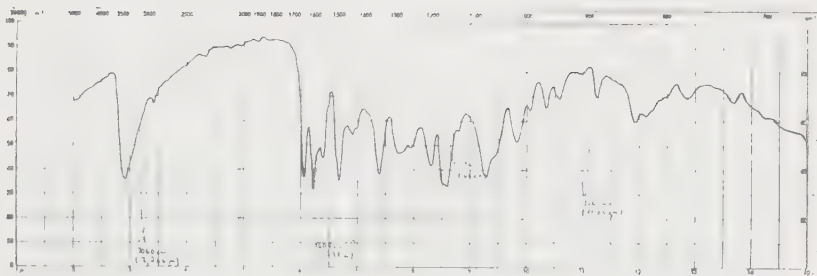
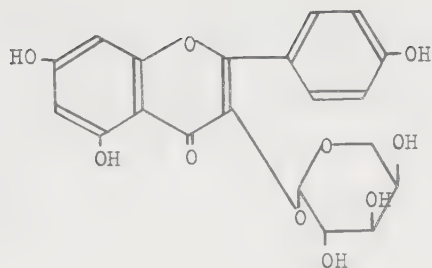


Abb. 3

IR-Spektrum von Glykosid B2

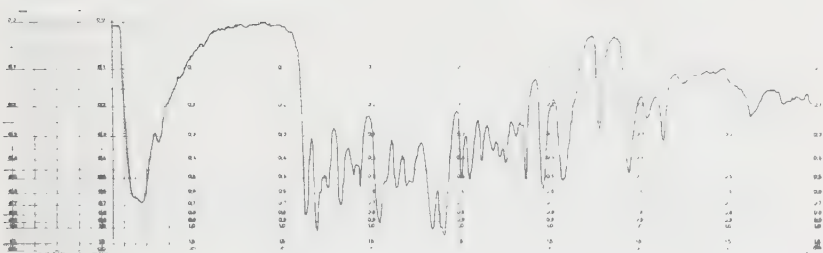


Abb. 4

IR-Spektrum von Juglanin

g) Versuche zur Strukturaufklärung der Glykoside G 1 und G 2

Bei der säulenchromatographischen Trennung erhielten wir 200 mg eines amorphen Gemisches der Glykoside G 1 und G 2, das sich trotz mehrfacher Versuche nicht weiter auftrennen ließ.

Während das Gemisch im Dünnschichtchromatogramm nach Entwicklung in 90% Methanol und ebenso in BEW auf dem Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck lieferte, gelang uns die glatte Auftrennung der Glykoside sowohl in einem 23-stündigem Durchlaufchromatogramm in AAW als auch durch zweidimensionale Chromatographie in BEW (23 Std.) und AAW (16 Std.).

Die Lage der UV-Maxima (255 und 359 m μ) und die Fluoreszenz der Glykoside unter dem UV-Licht waren charakteristisch für Flavonolglykoside.

Die Hydrolyse beider Substanzen ergab eine Substanz mit einem Schmelzpunkt von 303 - 305°C, die im Mischschmelzpunkt, im Schmelzpunkt des Acetates (Fp: 206°C), sowie bei dem chromatographischen Vergleich mit Isorhamnetin identisch war. Als Zucker konnten wir Rhamnose, Glucose, Xylose und Galactose nachweisen. Nach Methylierung der Glykoside und anschließender Hydrolyse erhielten wir ein einheitliches Methylprodukt mit einem Schmelzpunkt von 192 - 193°C, das im Mischschmelzpunkt mit 5,7,3',4'-Tetramethylquercetin keine Depression zeigte. Damit dürfte für beide Glykoside das C3-Hydroxyl als einzige Zuckerverknüpfungsstelle in Frage kommen. G1 und G2 sind demnach beide Isorhamnetin-3-glykoside.

Zur weiteren Untersuchung wurde ein Teil des Glykosidgemisches durch präparative Papierchromatographie getrennt und die ausgeschnittenen Streifen mit Methanol eluiert. Wir bezeichneten das im R_f tiefer liegende Glykosid als G1, das andere als G2. Mit den einzelnen Substanzen führten wir partielle Hydrolysen durch, indem wir die Glykoside einmal mit Cyclohexanol und Ameisensäure, zum anderen mit 2% Salzsäure

erhitzten und in Abständen von 1 Minute Proben entnehmen, die wir zusammen mit Testsubstanzen chromatographierten. Bei beiden Glykosiden konnten wir schon nach kurzer Einwirkungszeit als erstes Spaltprodukt Isorhamnetin-3-rutinosid nachweisen und schließlich nach weiterer Hydrolyse Isorhamnetin-3-glucosid und Isorhamnetin.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß es sich bei Glykosid G1 und G2 um Isorhamnetin-3-trisaccharide handelt, bei denen der dritte Zucker, in einem Falle die Galactose, im anderen die Xylose, mit der Rutinose verknüpft sein muß. Da sich die Pentosen chromatographisch lipophiler als die Hexosen verhalten, nehmen wir für Glykosid G1 die Struktur eines Isorhamnetin-3- β -(galactosyl)-rutinosids und für Glykosid G2 die Struktur eines Isorhamnetin-3- β -(xylosyl)-rutinosids an.

Damit sind unsere Glykoside ähnlich gebaut wie das Isorhamnetin-3-(galactosyl)-rutinosid aus den Pollen von *Lilium candidum* L., das von TAPPI und MENZIANI²⁹⁾ beschrieben wurde, und das Isorhamnetin-3-(rhamnosyl)-rutinosid, das von FRIEDRICH³⁰⁾ in den Blüten von *Calendula officinalis* L. aufgefunden wurde.

II. Synthese von Polyhydroxy-flavon-3-glykosiden

1. Allgemeines

Für die meisten der in unserem und anderen Arbeitskreisen in großer Anzahl isolierten und identifizierten Flavon-3- und Flavon-7-glykoside steht die Synthese und damit der endgültige Strukturbeweis noch aus. Da in *Flores Cacti grandiflori* vor allem Flavonol-3-glykoside gefunden wurden, fiel mir die Aufgabe zu, nach einer Synthesemöglichkeit für diese Glykosidgruppe zu suchen, während sich ein anderer von uns^{*)} um die Darstellung der C7-Glykoside bemühte.

Für die Glykosidsynthesen in der Flavonreihe bieten sich mehrere Möglichkeiten an. So synthetisierte ZEMPLÉN³¹⁾ das 5,7,4'-Trihydroxy-isoflavon-7-glucosid Genistin durch Umsetzung des Aglykons mit dem Halogenzucker in Aceton und Lauge. Die gleiche Methode benutzten BOGNAR und SZABO³²⁾ für die Darstellung des 5,7,4'-Trihydroxy-isoflavon-4'-glucosids Sôphoricosid, nachdem sie vorher die C7-OH-Gruppe durch eine p-Nitrobenzyl-Gruppe abgedeckt hatten. Bei der Anwendung dieses Verfahrens auf Flavanone gelang es ZEMPLÉN und BOGNAR, das 5,7,3'-Trihydroxy-flavanon Hesperetin direkt mit Glucose³³⁾ und Rutinose³⁴⁾ zum entsprechenden 7-O-Glykosid zu kuppeln, ohne daß die freie C5- und C3'-OH-Gruppe vorher kaschiert werden mußte. Auch in unserem Arbeitskreis haben GURNIAK³⁵⁾ und OSTERMAYER³⁶⁾ diese Methode zur Darstellung des 5,7,3'-Trihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavon-7-glucosids Centaurein und des Luteolin-7-glucosids, eines 5,7,3',4'-Tetrahydroxy-flavon-7-glucosids, herangezogen.

Wie aus dieser Übersicht hervorgeht, wurde bei diesen Synthesen vor allem die C7-OH-Gruppe mit dem Zucker verknüpft. Daß bei den angeführten Glykosidierungen die anderen Hydroxylgruppen nicht oder nur in geringem Maße mitreagierten, liegt an der wesentlich schwächeren Reaktionsfähigkeit der OH-Gruppen in C4'-, C3'- und C5-Stellung. Daher

*) Dissertation KRAEMER in Vorbereitung.

nen auszuschließen, versuchten ZEMPLÉN und Mitarb.⁴⁵⁾ durch Hydrolyse eines vollständig acetylierten Quercetin-3-rhamnosids zu einem 5,7,3',4'-Tetraacetyl-quercetin mit freier C3-OH-Gruppe zu kommen. Dieses setzten sie dann mit Acetobromglucose nach der Chinolin-Silbersalz-Methode um und verseiften das entstandene Octaacetat des Quercetin-3-glucosids. Auf diese Weise konnten sie aber kein Quercetin-3-glucosid erhalten. Die Darstellung gelang jedoch ICE und WENDER⁴⁶⁾ durch Umsetzung von Quercetin-Kalium und Acetobromglucose in flüssigem Ammoniak. Über die Synthese von Quercetin-3-rutinosid aus Quercetin-Kalium und Acetobromrutinose nach dem gleichen Verfahren berichtete PREOBRA-SHENSKI⁴⁷⁾. Wie aus der Literatur hervorgeht, erhält man dabei durch die unvollständige Umsetzung des Aglykons und die dadurch notwendig gewordene Reinigung bzw. Trennung des Reaktionsproduktes über Säulen nur geringe Ausbeuten. Eigene Versuche in unseren Laboratorien, auf diese Weise Quercetin-3-maltosid und Quercetin-3-cellobiosid⁴⁸⁾ herzustellen, bestätigten diese Angaben.

Orientierende Versuche, die freien Aglykone Isorhamnetin (3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon) und Quercetin (3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon) nach ZEMPLÉN und FARKAS³⁷⁾ in Aceton und Lauge umzusetzen, ergaben nach dem Chromatogramm ein Gemisch von Mono-, Di- und Trisacchariden. Die Anwendung der Chinolin-Silbersalz-Methode führte bei Isorhamnetin und Quercetin zu dem gleichen Ergebnis, wobei Quercetin noch zum Teil durch Oxydation⁴⁹⁾ zerstört wurde. Die Reaktionsfähigkeit der Hydroxylgruppen bei den angegebenen Aglykonen nimmt von C5 über das C3', C3, C4' zum C7 hin zu. Da es uns auf eine selektive C3-Glykosidierung ankam, mußten die C7 und C4'-Hydroxyle geschützt werden.

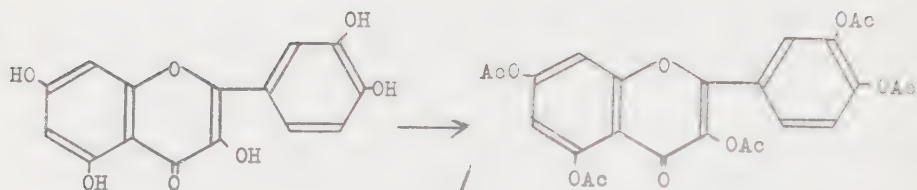
Hierzu bot sich ein Verfahren nach JURD⁵⁰⁾ an, mit dem Polyhydroxyflavone selektiv in C7 und C4'-Stellung benzyliert werden können. Beim Isorhamnetin waren dann nur noch die OH-Gruppen am C3 und C5, beim Quercetin am C3, C5 und C3'

unbesetzt. Da die C5-OH-Gruppe durch Wasserstoffbrückenbildung cheliiert ist und die Reaktionsfähigkeit des C3'-Hydroxyls wesentlich geringer ist als die des C3-Hydroxyls, wäre damit die Möglichkeit gegeben, die C3-OH-Gruppe selektiv mit verschiedenen Zuckern zu verknüpfen.

Die ersten Versuche, die 7,4'-Dibenzyl-flavonole nach der Aceton-Kalilauge-Methode zu glykosidieren, führten zu keinem Ergebnis. Vermutlich war hierfür trotz der kaschierten C7 und C4'-Hydroxylgruppen die Chelierung der C3-OH-Gruppe mit der Carbonylgruppe verantwortlich. Erst bei Anwendung der Chinolin-Silbersalz-Methode gelang uns die selektive Glykosidierung am C3. Die besten Ergebnisse erhielten wir jedoch in Abwandlung dieses Verfahrens, wenn wir Chinolin durch Pyridin ersetzten. Wir konnten hiermit die Zahl der chromatographisch feststellbaren Nebenprodukte deutlich verringern.

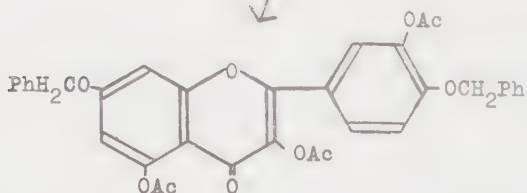
Wie das Schema auf Seite 25 und 26 zeigt, gingen wir zur Darstellung des 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetates (III) vom Quercetinpentaacetat (II) aus. Durch Entacetylierung des 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetates erhielten wir das 4',7-Dibenzyl-quercetin (IV), während eine partielle Methylierung zum 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin (VII) führte. Die Umsetzung der beiden 4',7-Dibenzyl-flavonole führten wir mit den Acetobromverbindungen von Glucose, Galactose, Xylose, Rhamnose, Cellobiose und Rutinose durch, wobei in den meisten Fällen die 4',7-Dibenzyl-flavonol-glykoside (V + VIII) als kristalline Zwischenprodukte erhalten werden konnten. Zu den Flavonolglykosiden gelangten wir dann durch Entbenzylierung auf dem Wege der katalytischen Hydrierung.

Reaktionsschema zur Glykosidsynthese

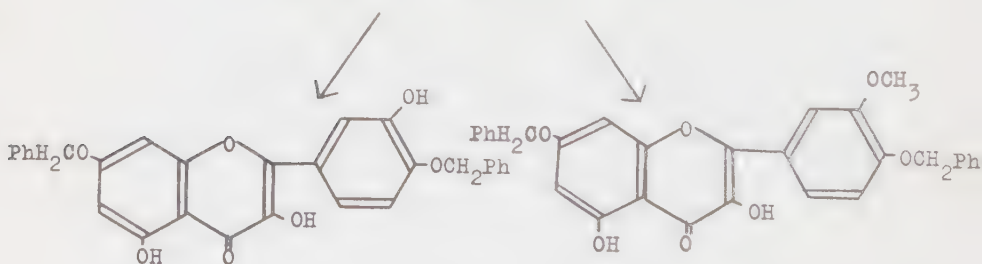


3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon
(Quercetin) I

3,5,7,3',4'-Pentaacetoxy-flavon
(Quercetinpentaacetat) II



3,5,3'-Triacetoxy-4',7-dibenzyloxy-flavon
(4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat) III

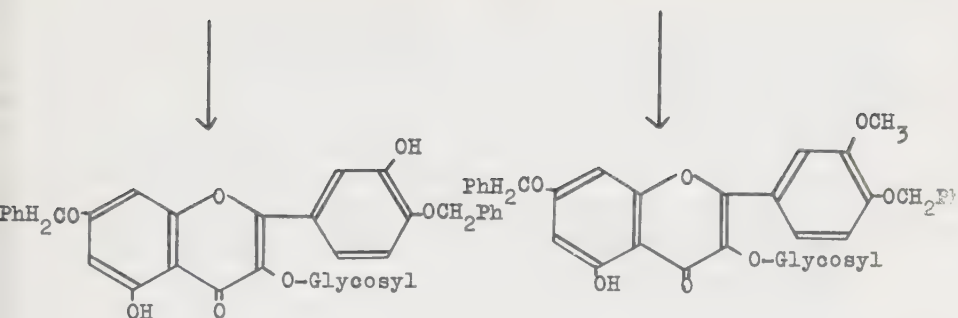


3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzyloxy-
flavon (4',7-Dibenzyl-quercetin)

3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-
4',7-dibenzyloxy-flavon
(4',7-Dibenzyl-isorhamnetin)

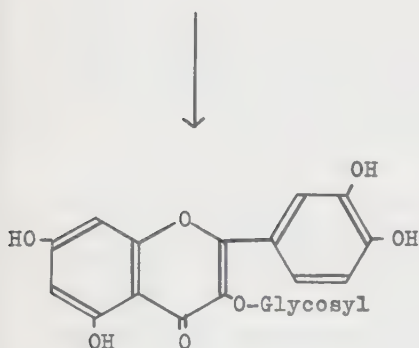
IV

VII

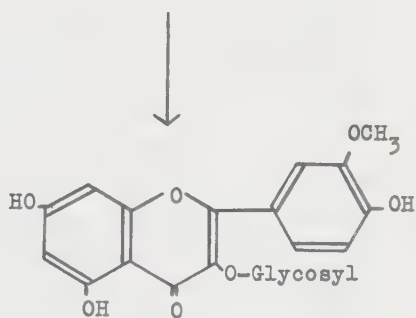


3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzoyloxy-flavon-3-glykosid (4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glykosid) V

3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzoyloxy-flavon-3-glykosid (4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-glykosid) VIII



3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-glykosid (Quercetin-3-glykosid) VI



3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-3-glykosid (Isorhamnetin-3-glykosid) IX

2. Ausgangsprodukte für die Glykosidsynthese

a) Darstellung von 4',7-Dibenzyl-quercetin (IV) und 4',7-Di-benzyl-isorhamnetin (VII)

Vom Quercetin (I) ausgehend, erhielten wir durch Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin Quercetinpentaacetat (II). Dieses wurde nach JURD⁵⁰⁾ durch Benzylierung in wasserfreiem Aceton in das 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat (III) überführt. JURD benzyliert 20 Stunden und entacetyliert das aus 7-Benzyl-quercetin-tetraacetat und 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat entstandene Gemisch. Das Dibenzylprodukt wird durch die bessere Löslichkeit in siedendem Benzol von dem reichlich vorhandenen Monobenzylprodukt abgetrennt. Wir stellten fest, daß durch Erhöhung der Benzylierungsdauer auf 96 Stunden vorwiegend das Dibenzylprodukt entsteht. Dieses ist als Triacetat aus dem Reaktionsprodukt in guter Ausbeute erhältlich, während das Monobenzylderivat und andere Nebenprodukte in der Mutterlauge bleiben. Durch Entacetylierung des 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetats gelangten wir zu dem 4',7-Dibenzyl-quercetin.

Zur selektiven Methylierung in C3'-Stellung, die zu dem 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin führt, wurde das 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat in einer Mischung von Aceton und wasserhaltigem Methanol mit Dimethylsulfat in Gegenwart von Kaliumcarbonat 2 Stunden lang umgesetzt. Die besten Ausbeuten erhielten wir, wenn die Lösung einen pH-Wert 8 hatte. Dabei wurden dann die Acetylgruppen verseift und bei Anwendung eines geringen Überschusses an Dimethylsulfat in erster Linie nur die OH-Gruppe am C3'-Atom methyliert⁵⁰⁾, während die OH-Gruppen am C 3 und C 5 unter diesen Bedingungen frei blieben. Da das als Nebenprodukt entstandene Dimethylprodukt nicht in der alkalischen Aceton-Methanol-Lösung löslich war, konnte es gut abgetrennt werden.

b) Darstellung der Acetobromzucker

Von den verschiedenen Methoden zur Herstellung von Acetohalogenzuckern wählten wir im Falle der Glucose, Galactose und Xylose das Verfahren nach BARCZAI-MATOS und KÖRÖSY⁵¹⁾. Dabei werden die Zucker mit Essigsäureanhydrid und Perchlorsäure als Katalysator⁵²⁾ bei Zimmertemperatur acetyliert. Durch Zufügen von rotem Phosphor, Brom und Wasser entsteht hier über das Phosphorpentabromid Bromwasserstoff, der eine Umesterung am C1-Atom bewirkt.

Zur Herstellung der Acetobromrhamnose nach FISCHER⁵³⁾, sowie der Acetobromcellobiose nach PASCU⁵⁴⁾ und der Acetobromrutinose nach ZEMPLEN⁵⁵⁾ gingen wir von den Acetylzuckern aus, die wir in einem Verfahren nach FREUDENBERG⁵⁶⁾ mit Bromwasserstoff in Eisessig zu den Acetohalogenzuckern umsetzten.

3. Darstellung von Isorhamnetin- und Quercetin-3-glykosiden

a) Darstellung von 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin- und 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glykosiden

Die 4',7-Dibenzyl-flavonole lösten wir in getrocknetem Pyridin und brachten sie mit 1.1 Mol der verschiedenen Acetobromzucker und dem Silberoxyd bzw. Silbercarbonat durch Schütteln zur Reaktion. Der Verlauf der Glykosidierungen wurde chromatographisch auf Kieselgel-G-Platten in Butanol-Pyridin-Ameisensäure verfolgt. Bei allen Umsetzungen, die in den meisten Fällen quantitativ verliefen, war die Reaktion nach 2 - 3 Stunden beendet. Bei längerer Reaktionsdauer erhöhte sich die Zahl der Nebenprodukte. Eine Ausnahme bei der Glykosidierung machten die Ansätze mit Acetobromrhamnose, bei denen wir nur einen geringen Anteil an Dibenzylflavonolglykosiden erreichten. Die Ausbeute konnte trotz Variation der Reaktionsdauer und der eingesetzten Acetobromzuckermenge nicht gesteigert werden.

Bei den Glykosidierungen des 4',7-Dibenzyl-quercetins erwies sich Silbercarbonat wegen seiner geringen oxydierenden

Wirkung günstiger als Silberoxyd. Nach dem Absaugen der Silbersalze wurden die Reaktionslösungen in verdünnte Essigsäure gegossen und die ausgefallenen Glykoside abgesaugt. Wir entacetylierten die Dibenzyl-flavonol-glykoside mit wässriger Kalilauge. Anschließend gaben wir die eingeengten Lösungen zur Reinigung über eine Kieselgelsäule, um noch vorhandene Silbersalze und Spuren von nicht umgesetztem Dibenzylaglykon zu entfernen, die die Kristallisation der Glykosidierungsprodukte erschwerten.

b) Entbenzylierung der 4',7-Dibenzyl-flavonol-3-glykoside

Die 4',7-Di-benzyl-isorhamnetin- und 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glykoside wurden in absolutem Methanol mit Palladium-Kohle als Katalysator in einem Schüttelkolben hydriert. Wir verfolgten den stufenweisen Verlauf der Hydrierung, der über ein 7-Monobenzyl-flavonol-3-glykosid führte, auf Kieselgel-Platten in Äthylacetat-Methanol-Wasser. Nach Beendigung der Umsetzung mußten wir die Ansätze mit Isorhamnetin- und Quercetin-3-rhamnosid, die noch viele Verunreinigungen enthielten, über eine Ultramidsäule reinigen. Alle anderen Glykoside wurden direkt aus den Hydrierungsansätzen durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigt.

Die Abbildung 5 (S.30) zeigt als Beispiel den chromatographischen Verlauf der Synthese bei der Umsetzung von Dibenzyl-quercetin mit Acetobromglucose und von Dibenzyl-isorhamnetin mit Acetobromrutosose.

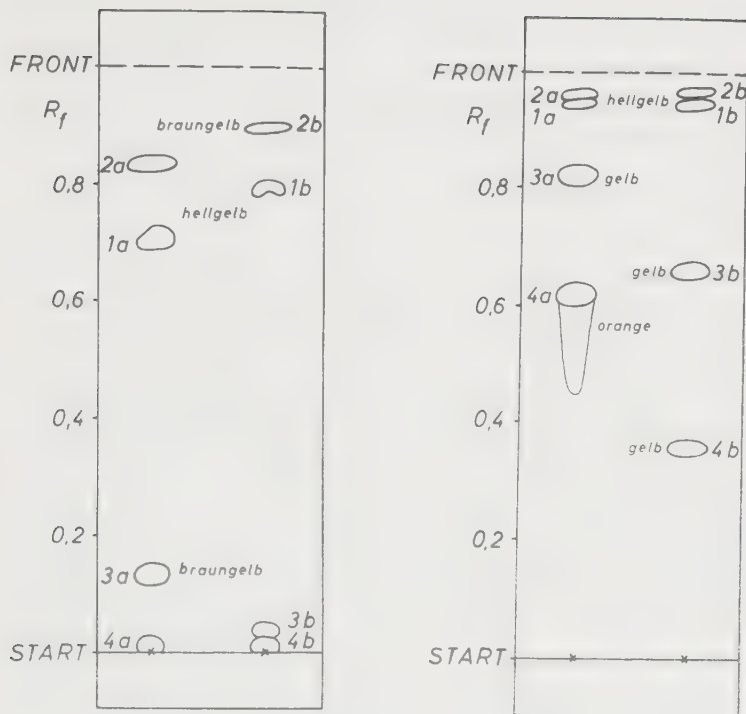


Abb. 5

Dünnschichtchromatogramme der Flavonol-3-glykosid-Synthesen

Adsorbens: Kieselgel G

Laufmittel: Butanol/Pyridin/
Ameisensäure (36:9:5)

UV-Licht unbesprüht

1a = Dibenzyl-quercetin

2a = Dibenzyl-quercetin-3-
tetraacetyl-glucosid

3a = Dibenzyl-quercetin-3-
glukosid

4a = Quercetin-3-glucosid

Adsorbens: Kieselgel G

Laufmittel: Äthylacetat/Methanol/
Wasser (100:16.5:13.5)

Sprühmittel: bas. Bleiacetat

1b = Dibenzyl-isorhamnetin

2b = Dibenzyl-isorhamnetin-3-
heptaacetyl-rutinosid

3b = Dibenzyl-isorhamnetin-3-
rutinosid

4b = Isorhamnetin-3-rutinosid

c) Vergleich der synthetisierten und isolierten Glykoside

Die quantitative salzsaure Hydrolyse der 4',7-Dibenzyl-flavonol-glykoside bzw. der Flavonol-glykoside (s.Tab. 2, S. 42) zeigte, daß eine Zucker-Verknüpfung in allen Fällen nur an einer Hydroxylgruppe stattgefunden hatte. Im chromatographischen Verhalten und in der UV-Fluoreszenz stimmten die synthetischen Glykoside mit den zur Verfügung stehenden isolierten Produkten überein (siehe Tab. 10, S. 68). Die synthetischen Glykoside ergaben einen positiven Zirkon-Zitronensäure-Test und bei der Reaktion mit Eisen-III-chlorid in absolut methanolischer Lösung eine Grünfärbung. Dadurch war eine Glykosidierung am C5-Hydroxyl ausgeschlossen.

Es ist bekannt, daß bei den zum Vergleich vorhandenen natürlichen Glykosiden der Zuckeranteil β -glykosidisch gebunden ist. Bei der Synthese gingen wir von Halogenzuckern aus, die bedingt durch den Hassel-Ottar-Effekt in der stabileren α -Form vorliegen⁵⁷⁾. Die Glykosidierung nach der Königs-Knorr-Methode stellt eine nucleophile Substitution dar, die nach dem S_N2 -Mechanismus verläuft, kinetisch jedoch den Regeln einer Reaktion 1. Ordnung folgt. Sie ist durch das Vorhandensein eines asymmetrischen C 1-Atoms mit einer Konfigurationsumkehr (Waldensche Umkehrung) am C1-Atom verbunden⁵⁸⁾. Wir erhalten demnach bei der Synthese in jedem Fall Flavonol- β -glykoside.

Um dies für die vorliegenden Glykoside noch zu beweisen, führten wir enzymatische Spaltungsversuche mit einem Enzympräparat aus süßen Mandeln (Emulsin) und einem Präparat aus Bierhefe durch. Unter der Bezeichnung Emulsin versteht man heute ein Enzymgemisch, das allgemein β -glykosidische Bindungen spaltet. Es enthält in erster Linie β -Glucosidase, daneben aber auch noch β -Galactosidase und kleine Mengen von α -Mannosidase und α -Galactosidase⁵⁹⁾. Deshalb spaltet Emulsin nicht nur β -D-Glucopyranoside, sondern auch β -D-Galactopyranoside. Außerdem katalysiert es die glykosidische Bindung mit Zuckern, die sich durch Substitution an einem C-Atom von der β -D-Glucopyranose und der β -D-Galactopyranose ableiten, ohne daß dadurch die Spaltbarkeit aufgehoben wird.

Es ändert sich nur die Spaltungsgeschwindigkeit der Glykoside. Ersetzt man beispielsweise in der Glucopyranose die CH_2OH -Gruppe am C-Atom 5 durch Wasserstoff, so kommt man zu den β -D-Xylosiden, die nur noch im geringen Maße spaltbar sind. Ändert man die Konfiguration am C-Atom 4 der Glucopyranose unter gleichzeitigem Ersatz der CH_2OH -Gruppe am C5-Atom durch Wasserstoff, so gelangt man von den β -D-Glucosiden zu den α -L-Arabinosiden, die ebenfalls durch Emulsin spaltbar sind⁶⁰⁾⁶¹⁾. Allerdings beträgt die Spaltungsgeschwindigkeit der α -L-Arabinoside nur 1/15 der der β -D-Glucoside, während die Spaltbarkeit der β -D-Xyloside um 150 Mal geringer ist als die der β -D-Glucoside⁶²⁾. Emulsin spaltet also spezifisch β -D-Glucoside, daneben außerdem oben erwähnten Beispielen aber auch noch andere Heteroside, jedoch mit sehr großen Unterschieden in der Geschwindigkeit, so daß man dabei bis an die Grenze der Spaltbarkeit gelangen kann. β -Glykoside (z.B. Rutin), die sich dann mit Emulsin als praktisch nicht spaltbar erweisen, lassen sich meistens durch die Verwendung einer anderen Heterosidase mit β -glykosidischer Spezifität (z.B. Rhamnodiastase) leichter in Aglykon und Zuckeranteil zerlegen.

Bei unseren enzymatischen Versuchen wurden die Zucker des Isorhamnetin- und Quercetin-3-glucosids innerhalb von 24 Stunden vollständig abgespalten, wodurch die β -glykosidische Bindung bestätigt wurde. Bei anderen Glykosiden, dem Isorhamnetin- und Quercetin-3-galactosid, dem Isorhamnetin-3-cellobiosid und dem Isorhamnetin- und Quercetin-3-rhamnosid erhielten wir erst nach längerer Einwirkungszeit eine partielle Spaltung, während wir beim Isorhamnetin- und Quercetin-3-xylosid offenbar bedingt durch die äußerst geringe Spaltungsgeschwindigkeit auch nach Tagen nur Spuren Aglykon feststellen konnten. Isorhamnetin- und Quercetin-3-rutinosid erwiesen sich als nicht spaltbar. Die Ansätze mit α -Glucosidase aus der Bierhefe ergaben bei keinem Glykosid eine Zuckerabspaltung.

Die Mischschmelzpunkte der synthetischen Glykoside mit den natürlichen Substanzen ergaben keine Depression; ebenso zeigten die IR-Überlagerungsspektren (S. 74) in der Lage der charakteristischen Banden und im sonstigen Kurvenverlauf keine Unterschiede. Im Einzelnen erhielten wir beim Mischschmelzpunkt des *Hyperosids* (Fp: 224 - 226°C) mit dem synthetischen Quercetin-3-galactosid (Fp: 222 - 223°C) einen Wert von 223 - 225°C. Wir konnten damit die von SANDO⁶³⁾ aufgestellte Konstitutionsformel des Hyperosids beweisen. Für einen Vergleich des synthetischen Quercetin-3-glucosids stand uns leider im Augenblick kein natürliches *Isocitrin* zur Verfügung. Doch konnten wir durch die Übereinstimmung des IR-Spektrums und des Schmelzpunktes das Ergebnis von ICE und WENDER⁴⁶⁾ bestätigen, der bereits früher durch Umsetzung von Quercetin-Kalium mit Acetobromglucose die Struktur des Quercetin-3-glucosids sichergestellt hatte. Das von uns aus *Flores Cacti grandiflori* isolierte *Rutin* (Fp: 189 - 190°C) und das synthetische Quercetin-3-rutinosid (Fp: 188 - 190°C) ergaben im Mischschmelzpunkt keine Depression. Wir erhielten damit in wesentlich größerer Ausbeute und nach einer anderen Methode das gleiche Ergebnis wie PREOBRA-SHENSKI⁴⁷⁾, der Rutin aus Quercetin-Kalium und Acetobromrutosinose in flüssigem Ammoniak darstellte und dadurch seine Konstitution endgültig festlegte. Das IR-Überlagerungsspektrum und der Mischschmelzpunkt (Fp: 175 - 177°C) des synthetischen *Quercitrins* (Fp: 175 - 178°C) und des natürlichen Glykosids (Fp: 178 - 180°C) bewiesen seine Struktur als Quercetin-3-rhamnosid. Danach dürften ganz allgemein alle Rhamnoside der Flavonreihe eine β -glykosidische Bindung besitzen, im Gegensatz zu den Steroid-Herzglykosiden, bei denen die Zucker der L-Reihe nach KLYNE⁶⁴⁾ α -glykosidisch gebunden sein sollen. Für das synthetische Isorhamnetin-3-rutinosid (Fp: 178 - 180°C) ergab sich aus Mischschmelzpunkt und IR-Überlagerungsspektrum die Identität mit *Narcissin* (Fp: 178 - 180°C), dem Hauptglykosid aus *Flores Cati grandiflori*. Die von KUBOTA und HASE¹⁶⁾ vermutete Verknüpfung der Glucose und Rhamnose als Rutinose, die KOTAKE und ARAKAWA¹⁷⁾ durch

die Darstellung des Heptaacetates sicherstellten, konnten wir damit bestätigen. RAHMAN und ILYAS⁶⁵⁾ berichteten über das Vorkommen eines Isorhamnetin-3-glucosids (Fp: 177 - 179°C) in *Argemone mexicana* L., das KRAEMER^{*)} in unserem Arbeitskreis etwa zur gleichen Zeit auch aus Rapsblüten gewinnen konnte. Der Mischschmelzpunkt mit dem synthetischen Glykosid (175 - 178°C) ergab keine Depression, so daß auch für dieses Glykosid die obige Struktur als bewiesen gelten kann. Für das von uns zum ersten Male isolierte Isorhamnetin-3-galactosid (C a c t i c i n) mit einem Schmelzpunkt von 267 - 269°C gelang es uns ebenfalls, durch die Identität mit dem Syntheseprodukt (Fp: 264 - 268°C) den Konstitutionsbeweis zu erbringen.

Bei einem Vergleich des synthetischen Quercetin-3-xylosids mit dem von NAKAOKI und MORITA⁶⁶⁾ aus *Reynoutria japonica* H. isolierten Quercetin-3-xylosid (Reynoutrin)^{**)} erhielten wir dagegen keine Übereinstimmung. Der Schmelzpunkt des Syntheseproduktes liegt bei 210 - 211°C, der des Reynoutrins bei 200 - 201°C. Der Mischschmelzpunkt ergab 192 - 194°C. Auf dem Chromatogramm in ÄAW und BEW lag das Reynoutrin deutlich über unserem Glykosid (siehe Tab. 10, S. 68). Ein Vergleich der IR-Spektren beider Substanzen zeigte Unterschiede in der Lage der Banden zwischen 950 - 1100 cm⁻¹, die durch die C-O-Valenzschwingungen der Zucker bedingt sind.

Da in unserem Falle das Vorliegen eines Xylosids sicher ist, müssen wir die Richtigkeit der Xylosidstruktur für das von NAKAOKI isolierte Glykosid anzweifeln. Gestützt wird diese Vermutung durch die Identität des Reynoutrin-IR-Spektrums (s.S. 76) mit dem Spektrum von Avicularin, einem mehrfach isolierten und beschriebenen Quercetin-3-arabinosid⁶⁷⁾, für das ein Schmelzpunkt von 216 - 217°C angegeben wird. Da der gefundene Osazonschmelzpunkt von 155 - 156°C sowohl im Bereich des Xylosazons (Fp: 163°C) als auch des Arabinosazons (Fp: 165 - 166°C) liegt, kommt ihm als Identitätsbeweis für die Xylose keine Beweiskraft zu.

*) Dissertation in Vorbereitung
**) Für die Überlassung einer Probe Reynoutrin danken wir Herrn Professor Morita, University Toyana, Japan

Versuche, die Identität der synthetischen und isolierten Glykoside zusätzlich durch Vergleich der vollständig acetylierten Derivate zu beweisen, führten bisher zu keinem Ergebnis. Die bei verschiedenen Acetylierungen erhaltenen Produkte ließen sich vermutlich wegen der großen Anzahl der Acetylgruppen nicht kristallisieren. Chromatographisch stellten diese amorphen Verbindungen keinen einheitlichen Stoff dar, so daß wir annehmen, daß der acetylierte Zucker am C3 unter den Bedingungen der Acetylierung teilweise abgespalten wird. In der Literatur sind ebenfalls noch keine Acetate von Polyhydroxy-flavonol-glykosiden beschrieben worden.

EXPERIMENTELLER TEIL

I. Chromatographie

1. Säulenchromatographie

Zur Isolierung und Reinigung der beschriebenen Substanzen verwendeten wir:

P o l y a m i d s ä u l e n : Das Adsorbens bestand aus Ultramid K 228 BM der Fa. BASF, Ludwigshafen. Zur Entfernung löslicher Polymerbestandteile wurde das Polyamid mit heißem Methanol digeriert und abgesagt. Danach schlemmten wir es mit Wasser in die Säule ein. Es erwies sich als zweckmäßig, die Säule einen Tag lang absitzen zu lassen und vor Gebrauch das Wasser in der Säule durch Methanol zu verdrängen. Die Abtropfgeschwindigkeit betrug ca. 30 - 40 Tropfen in der Minute.

K i e s e l g e l s ä u l e n : Zur Anwendung kam Kieselgel Merck (0.05 - 0.2 mm), das mit Äthylacetat in die Säule eingeschlemmt wurde. Die Abtropfgeschwindigkeit betrug ca. 15 - 20 Tropfen in der Minute.

2. Dünnschichtchromatographie

Wir verwendeten Spiegelglasplatten der Größe 20 x 12 cm.

P o l y a m i d - P l a t t e n : 10 g Polyamid Merck wurden in 85 ml Äthylacetat suspendiert und gleichmäßig auf 10 Glasplatten durch Aufgießen verteilt. Nach dem Trocknen an der Luft waren die Platten gebrauchsfertig.

K i e s e l g e l - P l a t t e n : Als Adsorbens wurde Kieselgel G Merck verwendet. 16 g davon schlemmten wir mit 65 ml Äthylacetat an und verteilten die Suspension gleichmäßig auf 5 Platten, die wir bei Zimmertemperatur trocknen ließen. Als Kammern dienten Weckgläser von 15 cm Durchmesser und 26 cm Höhe, die mit Glasplatten bedeckt waren.

Als Laufmittel für Polyamidplatten wählten wir 90% Methanol

(Me 90%), für Kieselgelplatten Äthylacetat-Methanol-Wasser (ÄMW) 100:16.5:13.5 und Benzol-Pyridin-Ameisensäure (BPA) 36:9:5. Die Laufhöhe der Platten betrug jeweils 16 cm.

3. Papierchromatographie

Die papierchromatographischen Untersuchungen führten wir mit ungewaschenen Papieren Nr. 2043 bG1 der Fa. Schleicher und Schüll, Dassel, durch. Es wurde bei Zimmertemperatur in Glaskammern der Größe 50x20x60 absteigend chromatographiert. Als Fließmittel verwendeten wir:

BEW = Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5	Oberphase
Laufzeit: 20 - 24 Stunden	
ÄAW = Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser 10:2:3	Oberphase
Laufzeit: 7 - 9 Stunden	
BPW = Butanol-Pyridin-Wasser 6:4:3	einphasig
Laufzeit: 16 - 40 Stunden	

4. Sprühreagentien

Die Papier- und Dünnschichtchromatogramme wurden nach dem Trocknen unbesprüht und besprüht unter dem UV-Licht betrachtet. Als Sprühmittel dienen:

basische Bleiacetatlösung (Liquor Flumbi subacet. DAB 6)
für Glykoside, Aglykone und Syntheseprodukte

Anilinphthalatlösung (Anilin 0.63 g, o-Phthalsäure 1.66 g, wassergesättigtes Butanol ad 100 ml) für Zucker.

II. Isolierung und Trennung der Flavonolglykoside

Die Droge wurde von der Fa. Duvernoy, Stuttgart, über den Großhandel bezogen.

3 kg Flores Cacti grandiflori extrahierten wir in Anteilen von 250 - 300 g im Soxhlet zuerst mit Chloroform und anschließend mit Äther. Die auf diese Weise vorgereinigte Droge wurde in einem Siccotopf viermal mit Methanol bei 1.5 - 2 atü ausgekocht. Wir destillierten das Methanol im Rotationsverdampfer ab und lösten den Rückstand in 2 l heißem Wasser. Nach 24-stündigem Stehen bei 0°C konnten die ausgefallenen Ballaststoffe abgesaugt werden, worauf wir die Lösung auf 500 ml einengten. Nach nochmaligem 24-stündigem Aufbewahren bei 0°C wurde die Lösung filtriert und anschließend mit insgesamt 4 l Butanol ausgeschüttelt. Wir trockneten die Butanol-extrakte mit Natriumsulfat und destillierten das Lösungsmittel bei 50°C am Rotationsverdampfer ab. Der während des Einengens ausfallende Niederschlag wurde immer abgesaugt. Nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator erhielten wir 44 g braunes, sprödes Pulver.

Die Auftrennung des Glykosidgemisches (siehe Schema auf S. 6) erfolgte an Polyamidsäulen mit einem Durchmesser von 5.5 cm und einer Füllhöhe von 92 cm mit 90% Methanol als Elutionsmittel. 11 g des Glykosidgemisches lösten wir jeweils in 50 ml Methanol, engten die Lösung auf 25 ml ein und trugen sie vorsichtig auf die Säule auf. Wir verfolgten den Verlauf der Trennung unter dem UV-Licht. Die vorauslaufenden zwei blau fluoreszierenden Zonen wurden aufgefangen und nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels verworfen. Von den folgenden drei braunen Zonen erhielten wir jeweils 50 - 60 Fraktionen zu je 150 ml, die wir auf Polyamidplatten prüften.

Dabei ergab sich bei den vier durchgeführten Säulentrennungen etwa folgende Reihenfolge der Glykoside:

Fraktion 1 - 4	Glykosid F, G1 und G2
Fraktion 5 - 7	Glykosid D, F, G1 und G2
Fraktion 8 - 15	Glykosid D
Fraktion 16 - 32	Glykosid C1, C2, D
Fraktion 33 - 45	Glykosid C1, B2
Fraktion 46 - 53	Glykosid B1

Gleiche Mischfraktionen vereinigten wir und gaben sie nochmals über Polyamidsäulen. Wir trennten dann die Glykoside F, G1 und G2 und D, F, G1 und G2 auf Säulen mit 3 cm Durchmesser und 45 cm Füllhöhe, wobei wir zuerst Wasser und anschließend 70% Methanol als Laufmittel wählten.

Die Glykoside C1 und B2 wurden über Säulen von 4 cm Durchmesser und 40 cm Füllhöhe mit wassergesättigtem Äthylacetat getrennt; die Glykoside C1, C2 und D über die gleichen Säulen ebenfalls mit wassergesättigtem Äthylacetat, dem wir zum Schluß noch 10% Methanol zusetzten. Die Mischfraktionen vereinigten wir jeweils für eine erneute Säulentrennung. Die reinen Fraktionen wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und die Glykosidrückstände durch mehrmaliges Umkristallisieren aus geeigneten Lösungsmitteln gereinigt. Bei den Glykosiden G1 und G2, die durch säulenchromatographische Methoden nicht weiter getrennt werden konnten, erfolgte noch eine Reinigung über eine Kieselgelsäule mit Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:16.5:13.5) als Laufmittel. Die Ausbeute an reinen Glykosiden betrug:

Glykosid D :	1.6 g
Glykosid C1:	500 mg
Glykosid C2:	550 mg
Glykosid B1 :	250 mg
Glykosid B2 :	113 mg
Glykosid F :	95 mg
Glykosid G1 u.2:	200 mg (nicht kristallin)

Tabelle 1 enthält die R_f -Werte der isolierten Glykoside und der dazugehörigen Aglykone in drei verschiedenen Laufmitteln.

T a b e l l e 1

Substanz	R_f -Werte			Fluoreszenz UV	
	Me 90%	BEW	ÄAW	unbespr.	bespr. mit bas. Bleiacetat
Glykosid D	0.61	0.47	0.43	braun	gelb
Glykosid C 1	0.44	0.63	0.65	braun	gelb
Glykosid C 2	0.55	0.43	0.32	braun	orange
Glykosid B 1	0.35	0.58	0.49	braun	orange
Glykosid B 2	0.34	0.73	0.76	braun	hellgelb
Glykosid F	0.73	0.65	0.61	braun	hellgelb
Glykosid G 1 u. G 2	0.87	0.32	0.25	braun	gelb
Aglykon D, C 1, G 1 u. 2		0.80	0.87	gelb	grüngelb
Aglykon C 2, B 1		0.74	0.82	gelb	orange
Aglykon B 2, F		0.87	0.91	gelb	grüngelb

III. Allgemeine chemische und physikalische Untersuchungen

1. Farbreaktionen - -

Zirkon-Zitronensäure-Test¹²⁾¹³⁾:

Der Test wurde auf dem entwickelten Chromatogramm durchgeführt. Wir besprühten mit 2% methanolischer Zirkonoxychloridlösung und nach dem Trocknen zweimal kräftig mit einer 5% wässrigen Zitronensäurelösung. Nach dieser Behandlung fluoreszierten nur die Flavonverbindungen mit einer freien OH-Gruppe am C 3-Atom intensiv gelb. Waren die Flecken gelöscht, hielten wir das Chromatogramm über

konzentrierte Salzsäuredämpfe. Dabei trat bei Flavonol-3-glykosiden Hydrolyse ein, wodurch eine gelbe Fluoreszenz der freien Flavonole entstand.

Reduktionstest nach Willstätter⁸⁾:

5 mg Substanz wurden in 3 ml Methanol gelöst und auf 5 ml mit Wasser aufgefüllt. Die Lösung versetzten wir mit etwas Magnesiumpulver und gaben unter guter Kühlung langsam 2 ml Salzsäure zu. Dabei wurden die Flavonglykoside zu gefärbten Verbindungen reduziert.

Tauböck-Test⁹⁾¹⁰⁾:

5 ml einer flavonhaltigen Lösung dampften wir auf dem Wasserbad in einem Schälchen zur Trockne ein. Der Rückstand wurde in 5 ml Aceton gelöst, 0.1 g Borsäure und 0.1 g Oxalsäure zugegeben und das Lösungsmittel wieder abgedampft. Wir nahmen den Rückstand in 3 ml Äther auf, wobei bei Anwesenheit einer 4-Keto-5-hydroxy-Gruppe oder einer 4-Keto-3-hydroxy-Gruppe⁶⁸⁾ unter dem UV-Licht eine stark gelbgrüne Fluoreszenz auftrat.

Briggs-Locker-Test¹¹⁾:

Dieser Test diente zum Nachweis einer freien Hydroxylgruppe am C-Atom 5. 1 - 2 ml einer methanolischen Lösung der Glykoside oder Aglykone versetzten wir mit einem Tropfen einer 0.1% Eisen-III-chlorid-Lösung, worauf sich die Lösung zunächst grün färbte, beim Stehen jedoch nachdunkelte und nach braun umschlug.

2. Hydrolysen

Quantitative Hydrolyse:

20 - 100 mg der bei 110°C getrockneten Substanz wurden in 10 - 15 ml 5% HCl gelöst und zwei Stunden auf dem Dampfbad erhitzt. Die Dibenzyl-flavonol-glykoside lösten wir in einer Mischung von 5 ml Aceton und 5 ml Methanol und setzten 10 ml

4% HCl zu. Nach dem Erhitzen entfernten wir die organischen Lösungsmittel durch Verdampfen. Nach 24-stündigem Stehen im Kühlschrank wurde das Aglykon mit einer gewogenen G3-Fritte abgesaugt, bei 110°C zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Tabelle 2 enthält die Aglykonanteile der isolierten Glykoside und das Ergebnis der quantitativen Hydrolyse der Syntheseprodukte.

T a b e l l e 2

Syntheseprodukte	% Aglykon	
	berechnet	gefunden
4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-glucosid	75.4	74.2
4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-galactosid	75.4	73.5
4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-rutinosid	61.8	60.5
4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-cellobiosid	60.5	57.0
4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-xylosid	79.1	77.0
4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glucosid	74.9	71.6
4',7-Dibenzyl-quercetin-3-galactosid	74.9	71.3
4',7-Dibenzyl-quercetin-3-xylosid	78.6	76.1
Isorhamnetin-3-rhamnosid	68.5	66.3
Quercetin-3-rutinosid	49.5	50.6
Quercetin-3-rhamnosid	67.5	65.3
Glykosid D	49.2	49.6
Glykosid C 1	66.2	66.0
Glykosid C 2	49.5	48.7
Glykosid B 1	65.1	61.2
Glykosid B 2	68.4	66.2
Glykosid F	49.6	47.8

Partielle Hydrolyse nach FOX, SAVAGE und WENDER¹⁴⁾:

5 - 20 mg Glykosid wurden in 5 ml Cyclohexanol unter Erwärmen gelöst und 0.5 ml 98% Ameisensäure zugesetzt. Wir hielten die Lösung 9 Stunden unter Rückfluß im schwachen Sieden. Die Hydrolysenlösung konnte dann direkt zur Papierchromatographie verwendet werden.

Tabelle 3 zeigt die R_f -Werte der bei der partiellen Hydrolyse von Glykosid F, D und G1 und G2 erhaltenen Spaltprodukte und der dazugehörigen Testsubstanzen.

T a b e l l e 3

Substanz	R_f -Werte		Testsubstanz
	BEW	ÄAW	
Hydrolysenprodukte von Glykosid F	0.87	0.91	Kämpferol
	0.81	0.85	Kämpferol-7-rhamnosid
	0.75	0.77	Kämpferol-3-rhamnosid
	0.65	0.61	Glykosid F
Hydrolysenprodukte von Glykosid D	0.80	0.87	Isorhamnetin
	0.65	0.68	Isorhamnetin-3-glucosid
	0.47	0.43	Glykosid D
Hydrolysenprodukte der Glykoside G 1 und G 2	0.80	0.87	Isorhamnetin
	0.65	0.68	Isorhamnetin-3-glucosid
	0.47	0.43	Isorhamnetin-3-rutinosid
	0.32	0.25	Glykoside G 1 und G 2

3. Zuckernachweise

Zu diesem Zweck neutralisierten wir das Filtrat der quantitativen Hydrolyse mit Silberoxyd und filtrierten den Niederschlag ab. Das Filtrat wurde im Vakuum auf 2 ml eingedunstet und zur Chromatographie in BPW verwendet. Als Testsubstanzen nahmen wir Arabinose, Xylose, Rhamnose, Ribose, Glukose, Galactose, Mannose, Fructose und Rutinose. Nach dem Entwickeln und Trocknen wurden die Chromatogramme mit Anilinphthalat-Lösung besprüht und 10 Minuten bei 110°C im Trockenschrank getrocknet.

Die in Tabelle 4 angegebenen R_F -Werte sind auf Rhamnose bezogen worden.

T a b e l l e 4

Substanz	R_F -Werte in BPW 6:4:3	Farbe unter UV besprüht
Zuckerkomponente Glykosid	0.50	braun
D und C 2	0.60	braun
	1.0	braun
Zuckerkomponente Glykosid	0.53	braun
C 1 und B 1		
Zuckerkomponente Glykosid B 2	0.68	rot
Zuckerkomponente Glykosid	0.50	braun
G 1 und G 2	0.63	braun
	0.76	rot
	1.0	braun
Rutinose	0.50	braun
Galactose	0.53	braun
Glucose	0.63	braun
Arabinose	0.68	rot
Xylose	0.76	rot
Rhamnose	1.0	braun

Osazone

1 ml des neutralisierten und eingeengten Hydrolysenfiltrates wurde mit 1 ml einer frisch bereiteten Phenylhydrazinlösung versetzt (1 g Phenylhydrazinhydrochlorid + 1.5 g Natriumacetat ad 10 ml Wasser) und die Mischung 1 Stunde im siedenden Wasserbad erhitzt. Beim Erkalten flockte das Osazon als gelber Niederschlag aus. Nach dem Absaugen kristallisierten wir die Osazone aus verdünntem Äthanol um und identifizierten sie durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit authentischen Osazonen.

Die Mischosazone aus Rhamnose und Glucose wurden nach dem Abfiltrieren und Trocknen mit 1 ml Aceton versetzt. Dabei löste sich das Rhamnosazon, während das Glucosazon zurückblieb. Nach dem Abdampfen des Acetons erhielten wir das Rhamnosazon.

Abspaltung von Rutinose nach ZEMLEN und GERECE¹⁵⁾:

50 mg Rutin-"Merck" kochten wir mit 10 ml 10% Essigsäure 6 Stunden lang unter Rückfluß. Wir verdünnten die Lösung mit Wasser auf 20 ml und stellten sie über Nacht in den Eisschrank. Nachdem der Niederschlag abgesaugt war, brachten wir die Lösung im Vakuum zur Trockne. Der Rückstand wurde in 2 ml Wasser aufgenommen und als Rutinose-Testsubstanz zur Chromatographie in BPW verwendet.

4. Acetylierungen

10 - 30 mg der Substanz wurden in 5 ml Essigsäureanhydrid gelöst und 1 ml Pyridin zugesetzt. Wir erhitzen die Lösung 2 Stunden lang unter Rückfluß und gossen das Reaktionsgemisch auf die 10-fache Menge Eiswasser. Nach 3-stündigem Stehen im Eisschrank war die sich absetzende ölige Schicht fest geworden. Der Niederschlag wurde abgesaugt und aus Äthanol umkristallisiert. Tabelle 5 enthält die Analysenwerte der aus den Aglykonen dargestellten Acetate.

T a b e l l e 5

Substanz (Trocknung HV 90°)	Molgew. u. Summen- formel	Fp	Analysenwerte					
			ber.			gef.		
			%C	%H	%COCH ₃	%C	%H	%COCH ₃
Isorhamnetin- tetraacetat (aus Aglykon D, C 1 u. G 1 u. G 2)	C24 H20 O11 484.40	206-208	59.51	4.16	35.54	59.38	4.11	35.77
Quercetin- pehtaacetat (aus Aglykon C 2 u. B 1)	C25 H20 O12 512.43	186-188	58.60	3.93	42.00	58.55	3.84	41.53
Kämpferol- tetraacetat (aus Aglykon B 2 u. F)	C23 H18 O10 454.39	180-182	60.79	3.99	37.89	60.69	4.07	38.58

5. Methylierungen

- a) Methylierung mit Dimethylsulfat nach BRIGGS und CAMBIE⁶⁹⁾
(durchgeführt mit Aglykon D, C1, C2, B1 und G1 und G2)
50 - 300 mg Aglykon wurden in 75 - 150 ml trockenem Ace-
ton gelöst, 6 g wasserfreies Kaliumcarbonat und 3 ml
frisch destilliertes Dimethylsulfat zugefügt und das Ge-
misch 30 - 90 Stunden auf dem Heizpilz im schwachen Sie-
den gehalten. Wir filtrierten die Acetonlösung ab und
spülten zweimal mit je 30 ml Aceton nach. Wir versetzten
die Lösung mit 30 ml Wasser und destillierten das Aceton
im Vakuum ab. Die Methylprodukte schieden sich in der
erkalteten wässrigen Lösung als rotbraune, schmierige
Klumpen ab, die abfiltriert und aus Äthanol umkristalli-
siert wurden.

b) Methylierung mit Diazomethan (durchgeführt mit allen Glykosiden):

50 - 200 mg des Glykosids wurden in 25 ml absolutem Methanol gelöst und mit einer frisch bereiteten ätherischen Diazomethanlösung im Überschuß versetzt, so daß ein mit Eisessig benetzter Glasstab beim Eintauchen Gasentwicklung hervorrief. Entstand beim Zugeben der Ätherlösung ein Niederschlag, so mußte noch etwas absolutes Methanol zugegeben werden. Wir ließen das Gemisch 24 Std. bei -18°C stehen und anschließend noch 24 Std. bei Zimmertemperatur. Die Lösung dampften wir dann im Vakuum ein und nahmen den Rückstand in wenig Methanol auf. Nach Zugabe von 10 ml 5% Salzsäure erhitzen wir das Gemisch 1 - 2 Std. auf dem Dampfbad. Nach dem Abkühlen wurde der Niederschlag abgesaugt und durch Umkristallisieren gereinigt.

Tabelle 6 gibt die Analysenwerte der aus den Aglykonen und Glykosiden dargestellten Methylprodukte an. (S.48).

T a b e l l e 6

Substanz (Trocknung HV 90°)	Molgew. u. Summen- formel	Fp	Analysenwerte					
			ber.			gef.		
			%C	%H	%COCH ₃	%C	%H	%COCH ₃
5,7,3',4'-Tetra- methyl-quercetin (aus Glykosid D, C1,C2,B1 u.G1 u. G2)	C19 H18 O7 358.36	192-193	63.70	5.06	34.64	64.21	4.98	34.19
3,7,3',4'-Tetra- methyl-quercetin (aus Aglykon D, C1,C2,B1 u.G1 u. G2)	C19 H18 O7 358.36	159-161	63.70	5.06	34.64	64.14	5.14	36.02
5,7,4'-Trimethyl- kämpferol (aus Glykosid B2)	C18 H16 O6 328.33	145-146	65.85	4.91	28.36	65.68	4.88	25.41
5,4'-Dimethyl- kämpferol (aus Glykosid F)	C17 H14 O6 314.30	316-317	64.97	4.49	19.75	64.84	4.72	19.09

6. Enzymatische Versuche

a) Spaltung mit α -Glucosidasen aus Bierhefe:

Nach WEIDENHAGEN⁷⁰⁾ wurde abgepreßte untergärige Bierhefe mit 10% ihres Gewichtes mit fein gepulvertem Diammoniumphosphat bis zur Verflüssigung verrieben und nach einer Stunde mit Wasser verdünnt, so daß 10 ml Enzymlösung 1 g Hefe-Trockensubstanz entsprachen. 2 - 5 mg des Glykosids suspendierten wir in 8 ml Enzymlösung und 2 ml Phosphatpufferlösung (pH 6.8) und ließen das Gemisch bei 35°C im Brutschrank stehen. Eine Blindprobe, bei der die Enzymlösung durch Erhitzen auf 100°C inaktiviert worden war,

wurde jeweils mit untersucht. Zum Nachweis der Spaltung schüttelten wir die Ansätze nach 24 Stunden mit Äthylacetat aus und engten die vereinigten Auszüge im Vakuum auf 1 ml ein. Dieser Rückstand wurde chromatographisch auf Kieselgel-Platten in ÄMW und auf Papier in ÄAW auf das Vorhandensein von Glykosid und Aglykon untersucht.

War nach 24 Stunden noch keine eindeutige Spaltung zu erkennen, so machten wir weitere Ansätze, die dann 96 bzw. 168 Stunden im Brutschrank blieben.

- b) Spaltung mit β -Glucosidasen (Emulsin) aus süßen Mandeln:
Nach Angaben von VEIBEL⁷¹⁾ wurde eine Roh-Emulsin-Lösung aus süßen Mandeln hergestellt und ohne weitere Reinigung verwendet, da es nur auf den relativen Unterschied in der Spaltbarkeit der untersuchten Glykoside ankam. 2 - 5 mg des Glykosids suspendierten wir in 8 ml Enzymlösung und 2 ml Acetatpufferlösung (pH 4.62) und ließen das Gemisch zusammen mit einer Blindprobe (Erhitzen der Enzymlösung auf 100°C) 24 Stunden bei 35°C stehen. Der Nachweis der Spaltung erfolgte chromatographisch wie unter a) beschrieben. Bei ungenügender Spaltung wurden erneute Ansätze über 96 bzw. 168 Stunden gemacht.

Die Tabelle 7, S. 50, zeigt das Ergebnis der Enzymspaltung der synthetisierten Glykoside und der natürlichen Kämpferol-3-arabinoside.

T a b e l l e 7

Substanz	Emulsin			α -Glucosidase		
	24Std.	96Std.	168Std.	24Std.	96Std.	168Std.
Quercetin-3-glucosid	++	o	o	-	-	-
Isorhamnetin-3-glucosid	++	o	o	-	-	-
Quercetin-3-galactosid	(+)	+	+	-	-	-
Isorhamnetin-3-galactosid	(+)	+	+	-	-	-
Isorhamnetin-3-cellobiosid	(+)	+	+	-	-	-
Quercetin-3-rhamnosid	(+)	+	+	-	-	-
Isorhamnetin-3-rhamnosid	(+)	+	+	-	-	-
Quercetin-3-xylosid	-	(+)	(+)	-	-	-
Isorhamnetin-3-xylosid	-	(+)	(+)	-	-	-
Quercetin-3-rutinosid	-	-	-	-	-	-
Isorhamnetin-3-rutinosid	-	-	-	-	-	-
Juglanin	-	+	o	-	-	o
Grandiflorin	-	-	o	-	+	o

++ = vollständig

(+) = gering

+ = zu etwa 50%

o = nicht geprüft

7. Schmelzpunkte

Wir trockneten die Substanzen bei 110°C und bestimmten ihre Schmelzpunkte nach der Kapillarröhrchen-Methode in den Apparaten der Fa. Büchi, Flawil/Schweiz nach Tottoli sowie der Fa. Bender und Hobein, München.

8. IR-Spektren

Die Spektren wurden im Institut für Organische Chemie der Universität München mit dem Perkin-Elmer-IR-Spektrophotometer und im Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München mit dem Beckmann Spektrophotometer IR 8 in KBr gemessen. Die Einwaage betrug 1 - 3.5 mg.

9. UV-Spektren

Die Ultravioletspektren bestimmten wir mit dem Zeiss-Opton-Spektralphotometer PM Q 2 in Methanol p.a.. Die Schichtdicke der Quarzküvetten betrug 1 cm. Die genau eingewogenen Substanzen lösten wir ad 100 ml im Meßkolben, rechneten nach der Formel $\epsilon = \frac{E_{\text{gem.}} \cdot M}{c \cdot d}$ die Extinktion auf molar um und gaben den Logarithmus davon an.

10. Mikroanalysen

Ein Teil der Bestimmungen wurde im Mikroanalytischen Laboratorium A. Bernhardt, Max-Planck-Institut für Kohleforschung, Mülheim/Ruhr, durchgeführt. Die übrigen Analysen ließen wir im Mikrolaboratorium des Instituts für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München bestimmen.

Die Tabelle 8 enthält die Analysenwerte der isolierten Glykoside und der dazugehörigen Aglykone.

T a b e l l e 8

Substanz (Trocknung HV 90°C)	Molgew. u. Summenformel	Fp	Analysenwerte			
			ber.		gef.	
			% C	% H	% C	% H
Glykosid D	C28 H32 O16 .H2O 642.58	179-181	52.34	5.33	52.45	5.30
Glykosid C1	C22 H22 O12 478.42	267-269	55.22	4.63	54.69	4.73
Glykosid C2	C27 H30 O16 610.54	189-190	53.12	4.95	53.34	5.09
Glykosid B1	C21 H20 O12 464.39	224-226	54.32	4.44	54.69	4.62
Glykosid B2	C20 H18 O10 418.36	191-193	57.42	4.33	57.92	4.15
Glykosid F	C27 H30 O14 578.54	203-205	56.05	5.23	55.41	5.30
Isorhamnetin aus (Glykosid D, C1 + G1 u. G2)	C16 H12 O7 316.25	304-305	60.76	3.89	60.95	4.09
Quercetin (aus Glykosid C2 + B1)	C15 H10 O7 302.22	310-311	59.61	3.33	59.57	3.55
Kämpferol (aus Glykosid B2 + F)	C15 H10 O6 286.24	279-280	62.94	3.52	62.54	3.49

IV. Synthese der Polyhydroxy-flavon-3-glykoside

1. 3,5,7,3',4'-Pentaacetoxy-flavon (Quercetinpentaacetat)

II S. 25

60 g käufliches Quercetin^{*)} wurden in 300 ml Essigsäureanhydrid gelöst und 30 ml Pyridin zugefügt. Wir erhitzen die Lösung 5 Stunden unter Rückfluß und gossen sie noch heiß auf die zehnfache Menge zerstoßenes Eis. Das abgeschiedene Öl kristallisierte nach kurzer Zeit im Eisschrank und konnte abgesaugt werden. Das Acetat wurde aus Aceton umkristallisiert.

Fp: 187 - 188°C (Literaturschmelzpunkt: 188°C)

Ausbeute: 82 g = 80.5% d.Th.

2. 3,5,3'-Triacetoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon

(4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat) III S. 25

20 g Quercetinpentaacetat lösten wir in 400 ml trockenem Aceton und gaben 4 g Kaliumjodid, 50 g frisch geglühtes Kaliumcarbonat und 20 ml Benzylchlorid zu. Wir kochten die Mischung 96 Stunden unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß. Danach wurde die Acetonlösung abfiltriert und der Rückstand mehrmals mit trockenem Aceton gewaschen. Wir destillierten das Lösungsmittel im Vakuum ab und digerierten den öligen Rückstand öfters mit Hexan, bis die Masse fest geworden war. Wir lösten den Rückstand in Aceton, klärten mit Kohle und engten die Lösung auf 70 ml ein. Mit Methanol wurde auf 150 ml verdünnt, worauf nach dem Abkühlen und Reiben mit einem Glasstab weiße Kristalle ausfielen, die wir aus Aceton-Methanol umkristallisierten.

Fp: 154 - 156°C (Literaturschmelzpunkt: 155 - 156°C)

Ausbeute: 11.8 g = 49.68% d.Th.

*) Quercetin, kristallin, Fa.E.Merck, Darmstadt

3. 3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon

(4',7-Dibenzyl-quercetin) IV S. 25

12 g 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat wurden in 100 ml Methanol suspendiert. Wir alkalisierten die Mischung mit 10% Kalilauge und erhitzen sie 5 Minuten auf dem Dampfbad. Die dunkelrote Lösung verdünnten wir mit Wasser auf 800 ml und säuerten sie mit konzentrierter Salzsäure an. Der gelbe, körnige Niederschlag wurde abgesaugt und aus Methanol-Aceton oder Benzol umkristallisiert.

Fp: 180 - 181°C Ausbeute: 6.9 g = 72.5% d.Th.

C29 H22 O7 (482.49) Trocknung 90°C/HV

ber. C 72.19 H 4.59 gef. C 72.18 H 4.59

4. 3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon

(4',7-Dibenzyl-isorhamnetin) VII S. 25

4.2 g 4',7-Dibenzyl-quercetin-triacetat wurden in einer Mischung von 60 ml Aceton und 60 ml Methanol suspendiert, 1.04 g (0.77 ml) frisch destilliertes Dimethylsulfat und 5 g wasserfreies Kaliumcarbonat zugegeben. Wir erhitzen die Mischung 2 Stunden unter Rückfluß und filtrierten dann die Aceton-Methanol-Lösung ab. Wir engten auf 50 ml ein, säuerten mit 10% Salzsäure an, worauf gelbe Nadeln ausfielen. Nach 1 Stunde im Eisschrank wurde der Niederschlag abgesaugt, die anorganischen Salze mit Wasser ausgewaschen und der Rückstand aus Aceton-Methanol umkristallisiert.

Fp: 187 - 188°C Ausbeute: 1.25 g = 36.4% d.Th.

C30 H24 O7 (496.52) Trocknung 90°C/HV

ber. C 72.57 H 4.87 gef. C 72.68 H 5.05

5. Acetobromzucker

- a) α -Acetobromglucose (α -1-Brom-2,3,4,6-tetraacetyl-D-glucopyranose) nach BARCZAI-MATOS und KÖRÖSY⁵¹⁾

Eine Mischung von 200 ml Essigsäureanhydrid und 1.2 ml Perchlorsäure versetzten wir unter Rühren im Laufe einer halben Stunde mit 50 g getrockneter Glucose, wobei wir die Temperatur zwischen 30 und 40°C hielten. Darauf wurden 15 g amorpher Phosphor zugefügt und unterhalb 20°C 90 g Brom zugetropft. Unmittelbar anschließend fügten wir unter Vermeidung lokaler Erwärmung 18 ml Wasser zu und ließen die Mischung 1.5 Stunden stehen. Nach Zugabe von 150 ml Chloroform gossen wir die Mischung in 400 ml Eiswasser, trennten die Chloroformphase ab und filtrierten die Phosphorreste ab. Das Chloroform wurde zweimal mit dem gleichen Volumen Eiswasser gewaschen. Anschließend entfernten wir die letzten Säurespuren mit Natriumbicarbonatlösung und stellten die Lösung auf pH 6 ein. Wir versetzten die gelbe Chloroformlösung mit CaCl_2 , etwas CaCO_3 und Aktivkohle und ließen sie unter wiederholtem Umschütteln 1 Stunde stehen. Danach wurde filtriert und das Lösungsmittel bei 40°C im Vakuum abdestilliert. Wir lösten den Rückstand in dem gleichen Volumen trockenem Äther und setzten unter Reiben Petroläther zu, bis Kristallisation eintrat. Die α -Acetobromglucose wurde aus Äther-Petroläther umkristallisiert.

Fp: 87°C

Ausbeute: 97 g = 85% d.Th.

- b) α -Acetobromgalactose (α -1-Brom-2,3,4,6-tetraacetyl-D-galactopyranose)

Aus 50 g getrockneter Galactose stellten wir nach der unter a) beschriebenen Methode α -Acetobromgalactose her und kristallisierten sie aus Äther-Petroläther um.

Fp: 82 - 83°C

Ausbeute: 91 g = 80% d.Th.

c) α -Acetobromcellobiose (α -1-Brom-2,3,6,2',3',4',6'-hepta-acetyl-cellobiose) nach PASCU⁵⁴⁾

10 g Cellobioseoctaacetat^{*)} erhitzen wir in 25 ml Eisessig wenige Minuten auf dem Dampfbad und kühlen auf 20°C ab. Dann wurden 5 ml Essigsäureanhydrid und 35 ml einer bei 0°C gesättigten Lösung von HBr in Eisessig (36%) zugegeben. Nach zweistündigem Stehen bei Zimmertemperatur hatte sich der größte Teil des Acetates gelöst. Wir stellten die Lösung über Nacht in den Eisschrank, gossen sie anschließend in 500 ml Eiswasser und schüttelten mit 200 ml Chloroform aus. Die Chloroformphase wurde wie unter a) beschrieben weiter aufgearbeitet und der Rückstand aus 25 ml absolutem Äther kristallisiert.
Fp: 181 - 182°C (Zersetzung) Ausbeute: 8.9 g = 86.5% d.Th.

d) α -Acetobromxylose (α -1-Brom-2,3,4-triacetylxylopyranose)

Aus 20 g getrockneter Xylose wurde nach der unter a) beschriebenen Methode α -Acetobromxylose hergestellt und diese aus absolutem Äther umkristallisiert.
Fp: 99 - 100°C Ausbeute: 33 g = 73.5% d.Th.

e) α -Acetobromrutinose (α -1-Brom-2,3,4,2',3',4'-hexa-acetyl-rutinose) nach ZEMPLEN⁵⁵⁾

I. Rutinoseheptaacetat:

50 g Rutin^{**)} wurden mit 400 ml 10% Essigsäure 6 Stunden lang unter Rückfluß gekocht, die Lösung auf 800 ml mit Wasser verdünnt und über Nacht in den Eisschrank gestellt. Wir saugten den gelben Niederschlag ab, kochten ihn noch dreimal in gleicher Weise aus und brachten die Filtrate im Vakuum zur Trockne. Die vereinigten Rückstände lösten wir in 100 ml Wasser, klärten in der Wärme mit Kohle, filtrierten und destillierten das Wasser im Vakuum ab.

*) Fa.Fluka AG., Buchs S.G./Schweiz

**) Rutin zur Chromatographie, Fa.E.Merck, Darmstadt

Der Rückstand wurde mit 60 ml Essigsäureanhydrid und 10 ml Pyridin zwei Stunden auf dem Wasserbad erwärmt und dann in 400 ml Eiswasser gegossen. Das abgeschiedene Öl kristallisierte nach 24 Stunden im Eisschrank und konnte abgesaugt werden. Aus Äthanol erhielten wir weiße Nadeln, die aus Isopropanol umkristallisiert wurden.

Fp: 168 - 170°C

Ausbeute: 10 g

II. Acetobromrutinose:

10 g Rutinoseheptaacetat lösten wir in 100 ml Chloroform, kühlten die Lösung auf 0°C ab und versetzten sie mit 44 ml einer 36% Lösung von HBr in Eisessig. Nach 1.5-stündigem Aufbewahren bei 0°C gossen wir das Reaktionsgemisch in Eiswasser und arbeiteten die Chloroformphase wie unter a) beschrieben auf. Der sirupöse Rückstand wurde aus absolutem Äther kristallisiert.

Fp: 127 - 129°C

Ausbeute: 6.1 g = 59.1% d.Th.

f) α -Acetobromrhamnose (α -1-Brom-2,3,4-triacetyl-L-rhamnopyranose) nach Fischer⁵³⁾

I. Tetraacetylrrhamnose:

10 g getrocknete Rhamnose^{*)} wurden in 40 ml Pyridin unter Erwärmen gelöst und auf 0°C abgekühlt. Unter Eiskühlung setzten wir 40 ml Essigsäureanhydrid in Anteilen zu und ließen das Reaktionsgemisch 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Beim Eingießen in 400 ml Eiswasser fiel das Rhamnoseacetat als Öl aus. Wir nahmen das Öl in Äther auf und behandelten die abgetrennte Ätherphase mit verdünnter Schwefelsäure, dann mit Kaliumbicarbonatlösung und anschließend mit Wasser. Nach dem Trocknen über CaCl_2 wurde der Äther abdestilliert. Die ölige Acetylrrhamnose (10.8 g) konnte zur Bromierung verwendet werden.

II. Acetobromrhamnose:

10 g sirupöse Acetyl-rhamnose wurden in 10 ml Eisessig gelöst, bei 0°C mit 20 ml einer Lösung von HBr in Eisessig (36%) versetzt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Wir verdünnten das Reaktionsgemisch mit 100 ml Chloroform und behandelten die Chloroformphase mehrmals mit Eiswasser, worauf wir sie durch Schütteln mit CaCl_2 trockneten. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum erhielten wir aus absolutem Äther-Petroläther weiße Kristalle, die im Dunkeln aufbewahrt werden mußten.

Fp: 69 - 71°C

Ausbeute: 6.3 g = 58.5% d.Th.

6. Glykosidierung von 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin (VII S. 25)

und Entbenzylierung der 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-glykoside (VIII S. 26)

a) I. 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-glucosid (3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-mono- β -D-glucosid)

0.5 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und 0.45 g Acetobrom-glucose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst und 1.2 g frisch bereitetes Silberoxyd zugesetzt. Wir schüttelten das Reaktionsgemisch 4 Stunden lang, saugten dann die Silbersalze ab und spülten mit wenig Methanol nach. Das Filtrat wurde in 100 ml 5% Essigsäure gegossen und der flockige, braune Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und in Aceton aufgenommen. Die noch vorhandenen Silbersalze zentrifugierten wir ab, Die klare Lösung wurde mit Methanol verdünnt, mit 10% wässriger Kalilauge deutlich alkalisch gemacht und 1/2 Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Anschließend säuerten wir mit 10% Essigsäure an und zogen die organischen Lösungsmittel im Vakuum bei 35°C ab. Der Rückstand wurde mit Wasser digeriert, abgesaugt,

in Aceton-Methanol aufgenommen und zur Reinigung über eine Kieselgelsäule von 3.5 cm Durchmesser und 20 cm Länge gegeben. Als Elutionsmittel wählten wir Äthylacetat-Methanol-Wasser 100:20:15. Wir fingen etwa 20 Fraktionen zu je 25 ml auf, von denen die ersten das eventuell nicht umgesetzte Aglykon enthielten. Nach dem Eindampfen der Glykosidfraktionen kristallisierten wir den Rückstand aus Methanol-Isopropanol. Die gelben Nadeln von 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-glucosid wurden aus Äthanol weiter umkristallisiert.

Fp: 182 - 183°C Ausbeute: 0.24 g = 36.3% d.Th.

C36 H34 O12 (658.67) Trocknung 90°C/HV
ber. C 65.65 H 5.20 gef. C 66.04 H 5.36

a) II. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-mono- β -D-glucosid (Isorhamnetin-3-glucosid) IX S. 26

0.1 g. 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-glucosid wurden in 60 ml absolutem Methanol gelöst, eine Spatelspitze Palladium-Kohle*) zugesetzt und 4 Stunden in einem Schüttelkolben hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators brachten wir das Filtrat im Vakuum zur Trockne und kristallisierten den Rückstand aus Äthanol-Wasser um. Wir erhielten einen Schmelzpunkt von 175 - 178°C und eine Ausbeute von 58 mg = 80.5% d.Th.. Der Mischschmelzpunkt mit isoliertem Isorhamnetin-3-glucosid lag bei 174 - 176°C. Die Identität ergab sich auch aus dem IR-Überlagerungsspektrum (s.S. 75).

C22 H22 O12.H₂O (496.43) Trocknung 90°C/15 mm
ber. C 53.22 H 4.87 gef. C 53.44 H 5.09

UV-Spektrum in Methanol p.a. c = 1.3 mg/100 ml
Max I 256 m μ (log ϵ = 4.307)
Max II 355 m μ (log ϵ = 4.217)

*) Palladium-Kohle 10%, Fa.E.Merck, Darmstadt

b) I. 3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-mono-β-D-xylosid (4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-xylosid)

0.5 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und 0.35 g Acetobromxylose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1.2 g frisch bereitetes Silberoxyd zugesetzt und nach der unter a) I. beschriebenen Methode umgesetzt und aufgearbeitet. Nach dem 1/2 stündigen Verseifen mit 10% Kalilauge und dem Ansäuern mit 5% Essigsäure fielen Kristalle aus, die wir absaugten. Beim Einengen der angesäuerten Lösung erhielten wir weitere Kristalle, die aus Aceton umkristallisiert wurden.

Fp: 199 - 200°C

Ausbeute: 0.33 = 53% d.Th.

C₃₅ H₃₂ O₁₁ (628.64)

Trocknung 90°C/HV

ber. C 66.87 H 5.13

gef. C 66.79 H 5.20

b) II. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-3-mono-β-D-xylosid (Isorhamnetin-3-xylosid)

0.72 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-xylosid wurden in 120 ml absolutem Methanol suspendiert und in der unter a) II. angegebenen Weise 24 Stunden hydriert und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Äthanol um.

Fp: 251 - 253°C

Ausbeute: 0.32 g = 71.5% d.Th.

C₂₁ H₂₀ O₁₁ (448.37)

Trocknung 90°C/HV

ber. C 56.25 H 4.49

gef. C 56.10 H 4.78

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.25 mg/100 ml

Max I 256 mμ (log ε = 4.239)

Max II 356 mμ (log ε = 4.182)

c) I. 3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-mono- β -D-galactosid (4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-galactosid)

0.5 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und 0.45 g Acetobrom-galactose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1.2 g frisch bereitetes Silberoxyd zugesetzt und nach der unter a) I. beschriebenen Methode umgesetzt und aufgearbeitet.

Wir kristallisierten den Rückstand aus Äthanol um.

Fp: 202 - 204°C

Ausbeute: 0.25 g = 39% d.Th.

C36 H34 O12 (658.67)

Trocknung 90°C/HV

ber. C 65.65 H 5.20

gef. C 65.68 H 5.46

c) II. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-3-mono- β -D-galactosid (Isorhamnetin-3-galactosid)

0.17 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-galactosid wurden in 80 ml absolutem Methanol suspendiert und in der unter a) II. angegebenen Weise hydriert und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Äthanol-Wasser um und erhielten einen Schmelzpunkt von 265 - 268°C und eine Ausbeute von 73 mg = 59% d.Th.. Der Mischschmelzpunkt mit isoliertem Isorhamnetin-3-galactosid zeigte keine Depression. Die Identität ergab sich auch aus dem IR-Überlagerungsspektrum (siehe S. 11).

C22 H22 O12 (478.42)

Trocknung 90°C/HV

ber. C 55.22 H 4.63

gef. C 54.70 H 4.91

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.0 mg/100 ml

Max.I 255 m μ (log ϵ = 4.35)

Max.II 358 m μ (log ϵ = 4.249)

d) I. 3,5-Dihydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3- β -[β -D-glucosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]-D-glukosid (4',7-Dibenzyl-rhamnetin-3-cellobiosid)

0.5 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und 0.74 g Acetobromcellobiose wurden in 7 ml trockenem Pyridin gelöst, 1.2 g frisch bereitetes Silberoxyd zugegeben und wie unter a) I. beschrieben umgesetzt und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Isopropanol und reinigten die Kristalle durch weiteres Umkristallisieren aus Äthanol.

Fp: 220 - 222°C Ausbeute: 0.3 g = 37.2% d.Th.

C42 H44 O17 (820.81) Trocknung 90°C/HV

ber. C 61.46 H 5.40 gef. C 62.02 H 5.75

d) II. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-3- β -[β -D-glucosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]-D-glucosid (Isorhamnetin-3-cellobiosid)

0.74 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-cellobiosid wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst und in der unter a) II. Weise hydriert und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Äthanol-Wasser um.

Fp: 225 - 228°C Ausbeute: 0.29 g = 50.5% d.Th.

C28 H32 O17.H2O (658.58) Trocknung 90°C/15 mm

ber. C 51.07 H 5.21 gef. C 51.03 H 5.50

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.2 mg/100 ml

Max.I 255 m μ (log ϵ = 4.295)

Max.II 356 m μ (log ϵ = 4.207)

e) I. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-β-[α-L-rhamnosyl-(1→6)]-D-glucosid (4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-rutinosid)

0.5 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und 0.7 g Acetobrom-rutinosose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1.2 g frisch bereitetes Silberoxyd zugegeben und wie unter a) I. beschrieben umgesetzt und aufgearbeitet. Den Rückstand kristallisierten wir aus Äthanol um.

Fp: 128 - 130°C Ausbeute: 0.26 g = 32.1% d.Th.

C42 H44 O16 (804.81) Trocknung 90°C/HV

ber. C 62.68 H 5.51 gef. C 62.13 H 5.99

e) II. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-3-β-[α-L-rhamnosyl-(1→6)]-D-glucosid (Isorhamnetin-3-rutinosid)

0.1 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin-3-rutinosid wurden in 50 ml absolutem Methanol gelöst und in der unter a) II. beschriebenen Weise 3 Stunden lang hydriert. Wir kristallisierten den Rückstand aus Äthanol-Wasser um und erhielten einen Schmelzpunkt von 178 - 180°C und eine Ausbeute von 50 mg = 63.5% d.Th.. Der Mischschmelzpunkt mit isoliertem Isorhamnetin-3-rutinosid lag bei 179 - 180°C. Die Identität ergab sich auch aus dem IR-Überlagerungsspektrum (S. 74).

C28 H32 O16.H₂O (642.58) Trocknung 110°C/15mm

ber. C 52.34 H 5.33 gef. C 51.92 H 5.33

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.7 mg/100 ml

Max.I 255 mμ (log ε = 4.268)

Max.II 358 mμ (log ε = 4.193)

f) 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-3'-methoxy-flavon-3-mono- β -L-rhamnosid (Isorhamnetin-3-rhamnosid)

0.5 g 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin und 0.4 g Acetobrom-rhamnose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1.2 g frisch bereitetes Silberoxyd zugesetzt und in der unter a) I. angegebenen Weise umgesetzt und aufgearbeitet. Bei der Reinigung des Reaktionsproduktes über eine Kieselgelsäule mit Äthylacetat-Methanol-Wasser 100:20:15 fingen wir ungefähr 20 Fraktionen zu 25 ml auf, von denen die ersten das nicht umgesetzte Aglykon enthielten, das auf diese Weise gut abgetrennt werden konnte. Die Glykosidlösungen brachten wir im Vakuum zur Trockne. Wir lösten den Rückstand (aus insgesamt sieben Ansätzen von je 0.5 g Ausgangsprodukt) in 50 ml absolutem Methanol und hydrierten ihn in der unter a) II. angegebenen Weise. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators engten wir die Lösung auf wenige Milliliter ein und gaben sie zur Reinigung über eine Ultramidsäule. Als Laufmittel wählten wir Methanol. Die Glykosidfraktionen wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand aus Äthanol-Wasser umkristallisiert.

Fp: 244 - 245°C

Ausbeute: 23 mg = 0.7% d.Th.

C22 H22 O11 (462.42)

Trocknung 90°C/HV

ber. C 57.14 H 4.79

gef. C 56.77 H 4.70

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.15 mg/100 ml

Max.I 255 m μ (log ϵ = 4.267)

Max.II 361 m μ (log ϵ = 4.213)

Tabelle 9 enthält die R_f -Werte der Dibenzyllaglykone und der daraus synthetisierten Dibenzyl-flavonol-glykoside.

T a b e l l e 9

Substanz	R_f -Wert		Fluoreszenz UV	
	BPA	ÄMW	unbesprüht	besprüht mit bas.Bleiacet.
4',7-Dibenzyllisorhamnetin-3-glucosid	0.19	0.84	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllisorhamnetin-3-galactosid	0.2	0.82	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllisorhamnetin-3-xylosid	0.34	0.88	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllisorhamnetin-3-rhamnosid	0.38	0.9	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllisorhamnetin-3-cellobiosid	0.03	0.57	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllisorhamnetin-3-rutinosid	0.05	0.67	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllquercetin-3-glucosid	0.15	0.83	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllquercetin-3-galactosid	0.13	0.80	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllquercetin-3-xylosid	0.25	0.86	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllquercetin-3-rhamnosid	0.27	0.88	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllquercetin-3-rutinosid	0.03	0.70	braungelb	gelb
4',7-Dibenzyllquercetin	0.70	0.95	gelb	hellgelb
4',7-Dibenzyllisorhamnetin	0.79	0.95	gelb	hellgelb

7. Glykosidierung von 4',7-Dibenzyl-quercetin (IV S.25) und
Entbenzylierung der 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glykoside (V S.26)

a) I. 3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-mono- β -D-
glucosid (4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glucosid)

0.48 g 4',7-Dibenzyl-quercetin und 0.43 g Acetobrom-glucose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst und 1 g frisch bereitetes Silbercarbonat zugesetzt. Wir schüttelten das Reaktionsgemisch 3 Stunden lang, wobei wir nach ca. 15 Minuten das Gefäß kurz öffneten, um das entstandene CO₂ entweichen zu lassen. Nach vollendeter Umsetzung saugten wir die Silbersalze ab, spülten mit wenig Methanol nach und gossen das Filtrat in 100 ml 5% Essigsäure. Der flockige, braune Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und in Aceton aufgenommen. Wir zentrifugierten die noch vorhandenen Silbersalze ab, verdünnten die Lösung mit Methanol, machten sie mit 10% wässriger Kalilauge alkalisch und ließen sie eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Anschließend säuerten wir mit 5% Essigsäure an und zogen die organischen Lösungsmittel im Vakuum ab. Der Rückstand wurde mit Wasser digeriert, abgesaugt, in wenig Aceton-Methanol gelöst und zur Reinigung über eine Kieselgelsäule von 3.5 cm Durchmesser und 20 cm Länge gegeben. Als Laufmittel wählten wir Äthylacetat-Methanol-Wasser 100:20:15. Wir fingen etwa 20 Fraktionen zu 25 - 30 ml auf, von denen die ersten das eventuell nicht umgesetzte Aglykon enthielten, während die Verunreinigungen auf der Säule blieben. Nach dem Eindampfen der Glykosidfraktionen kristallisierten wir den Rückstand aus Äthanol-Aceton um.

Fp: 178 - 180°C

Ausbeute: 0.25 g = 39.6% d.Th.

C35 H32 O12 (644.64)

Trocknung 90°C/HV

ber. C 65.21 H 5.00

gef. C 64.87 H 5.20

a) 1. 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-mono- β -D-glucosid
(Quercetin-3-glucosid) VI S.26

0.45 g 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-glucosid wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst, eine Spatelspitze Palladium-Kohle zugesetzt und 5 Stunden lang in einem Schüttelkolben hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators brachten wir das Filtrat im Vakuum zur Trockne und kristallisierten den Rückstand aus Methanol-Wasser um. Der Schmelzpunkt ergab 215 - 217°C, die Ausbeute 0.22 g = 69% d.Th.. Der Schmelzpunkt für natürliches Quercetin-3-glucosid liegt bei 217 - 218°C. Ein Vergleich der IR-Spektren (s.S. 77) beider Substanzen zeigte keine Unterschiede.

C21 H20 O12 (464.39) Trocknung 90°C/HV
ber. C 54.32 H 4.44 gef. C 53.84 H 4.62

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.4 mg/100 ml

Max. I 258 m μ (log ϵ = 4.41)

Max. II 360 m μ (log ϵ = 4.32)

b) I. 3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-mono-
 β -D-xylosid (4',7-Dibenzyl-quercetin-3-xylosid)

0.48 g 4',7-Dibenzyl-quercetin und 0.35 g Acetobromxylose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1 g frisch bereitetes Silbercarbonat zugegeben und nach der unter 7. a) I. beschriebenen Methode umgesetzt und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Aceton-Methanol um.

Fp: 162 - 164°C Ausbeute: 0.3 g = 49% d.Th.

C34 H30 O11 (614.61) Trocknung 90°C/HV

ber. C 66.44 H 4.92 gef. C 66.04 H 5.34

Tabelle 10 zeigt die R_f -Werte und Farbtteste der synthetisierten Flavonol-3-glykoside:

T a b e l l e 10

Substanz	Fluoreszenz UV		R _f -Werte				Zirkon- Zitronen- säure- Test	Reaktion mit FeCl ₃ auf freie C 5-OH
			B E W		A A W			
	bespr. unbespr. Pb-ac.		synth.	isol.	synth.	isol.		
			Glykosid		isol.	Glyk.		
Corhamnetin-glucosid	braun	gelb	0.65	0.65	0.68	0.68	+	+
Corhamnetin-galactosid	braun	gelb	0.63	0.63	0.65	0.65	+	+
Corhamnetin-xylosid	braun	gelb	0.72	-	0.75	-	+	+
Corhamnetin-rhamnosid	braun	gelb	0.76	-	0.82	-	+	+
Corhamnetin-cellobiosid	braun	gelb	0.40	-	0.33	-	+	+
Corhamnetin-rutinosid	braun	gelb	0.47	0.47	0.43	0.43	+	+
Quercetin-glucosid	braun	orange	0.60	0.60	0.52	0.52	+	+
Quercetin-galactosid	braun	orange	0.58	0.58	0.49	0.49	+	+
Quercetin-xylosid	braun	orange	0.68(0.71)		0.64(0.69)		+	+
Quercetin-rhamnosid	braun	orange	0.72	0.72	0.73	0.73	+	+
Quercetin-rutinosid	braun	orange	0.53	0.53	0.32	0.32	+	+

b) II. 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-mono- β -D-xylosid
(Quercetin-3-xylosid)

0.55 g 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-xylosid wurden in 80 ml absolutem Methanol suspendiert und in der unter 7. a) II. angegebenen Weise hydriert und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Methanol-Wasser um.

Fp: 210 - 211°C Ausbeute: 0.25 g = 65% d.Th.

C₂₀ H₁₈ O₁₁·H₂O (452.36) Trocknung 90°C/15 mm
ber. C 53.10 H 4.46 gef. C 53.61 H 4.79

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 2.8 mg/100 ml

Max. I 257 m μ (log ϵ = 4.26)

Max. II 359 m μ (log ϵ = 4.195)

c) I. 3,5,3'-Trihydroxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon-3-mono-
 β -D-galactosid (4',7-Dibenzyl-quercetin-3-galactosid)

0.72 g 4',7-Dibenzyl-quercetin und 0.63 g Acetobromgalactose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1 g frisch bereitetes Silbercarbonat zugegeben und nach der unter 7. a) I. angegebenen Methode umgesetzt und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Aceton-Methanol um.

Fp: 210 - 211°C Ausbeute: 0.38 g = 39.3% d.Th.

C₃₅ H₃₂ O₁₂ (644.64) Trocknung 90°C/HV
ber. C 65.21 H 5.00 ber. C 64.86 H 5.22

e) II. 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-3-mono- β -D-galactosid
(Quercetin-3-galactosid)

0.4 g 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-galactosid wurden in 80 ml absolutem Methanol suspendiert und in der unter 7. a) II. beschriebenen Weise hydriert und aufgearbeitet. Wir kristallisierten den Rückstand aus Äthanol-Wasser um und erhielten einen Schmelzpunkt von 223 - 225°C und eine Ausbeute von 0.16 g = 55.5% d.Th.. Der

Mischschmelzpunkt mit isoliertem Quercetin-3-galactosid zeigte keine Depression. Die Identität ergab sich auch aus dem IR-Überlagerungsspektrum (S. 74).

C₂₁H₂₀O₁₂.H₂O (482.41) Trocknung 90°C/15 mm
ber. C 52.34 H 4.59 gef. C 52.61 H 4.64

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.6 mg/100 ml

Max. I 255 mμ (log ε = 4.41)

Max. II 360 mμ (log ε = 4.33)

d) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-β-[α-L-rhamnosyl-(1→6)]-D-glucosid (Quercetin-3-rutinosid)

0.96 g 4',7-Dibenzyl-quercetin und 1.4 g Acetobromrutinose wurden in 10 ml trockenem Pyridin gelöst, 2 g frisch bereitetes Silbercarbonat zugegeben und nach der unter 7. a) I. angegebenen Methode umgesetzt und aufgearbeitet. Da das entstandene 4',7-Dibenzyl-quercetin-3-rutinosid nicht kristallin erhalten werden konnte, lösten wir das Rohprodukt (1.13 g) in 80 ml absolutem Methanol und hydrierten es nach Zusatz einer Spatelspitze Palladium-Kohle 5 Stunden lang. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung im Vakuum eingeeengt, mit etwas Wasser versetzt, worauf nach kurzer Zeit gelbe Nadeln ausfielen, die wir aus Methanol-Wasser umkristallisierten. Es ergab sich ein Schmelzpunkt von 188 - 190°C und eine Ausbeute von 0.67 g = 54% d.Th.. Der Mischschmelzpunkt mit isoliertem Rutin lag bei 187 - 190°C. Die Identität ergab sich auch aus dem IR-Überlagerungsspektrum (S. 74).

C₂₇H₃₀O₁₆ (610.54) Trocknung 90°C/HV
ber. C 53.12 H 4.95 gef. C 52.83 H 5.16

UV-Spektrum Methanol p.a. c : 1.6 mg/100 ml

Max. I 256 mμ (log ε = 4.37)

Max. II 359 mμ (log ε = 4.29)

e) 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-mono- β -L-rhamnosid
(Quercetin-3-rhamnosid)

0.48 g 4',7-Dibenzyl-quercetin und 0.39 g Acetobrom-rhamnose wurden in 6 ml trockenem Pyridin gelöst, 1 g frisch bereitetes Silbercarbonat zugesetzt und nach der unter 7. a) I. beschriebenen Methode umgesetzt und aufgearbeitet. Bei der Reinigung des Reaktionsproduktes über eine Kieselgelsäule fingen wir 20 Fraktionen zu 25 - 30 ml auf. Die ersten Fraktionen enthielten das nicht umgesetzte Ausgangsprodukt, dann folgten die Glykosidanteile, während der größte Teil der Verunreinigungen auf der Säule blieb. Wir vereinigten die Glykosidfraktionen und brachten sie im Vakuum zur Trockne. Den Rückstand (aus insgesamt sieben Ansätzen von je 0.48 g) lösten wir in 50 ml absolutem Methanol und hydrierten ihn in der unter 7. a) II. angegebenen Weise. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung bis auf wenige Milliliter eingeeengt und zur Reinigung über Ultramidsäulen gegeben. Als Laufmittel wählten wir Methanol. Die Glykosidlösungen brachten wir im Vakuum zur Trockne und kristallisierten den Rückstand aus Methanol-Wasser um. Wir erhielten einen Schmelzpunkt von 177 - 179°C und eine Ausbeute von 37 mg = 1.19% d.Th.. Der Mischschmelzpunkt mit isoliertem Quercetin-3-rhamnosid (Fp: 179 - 181°C) zeigte keine Depression. Die Identität ergab sich auch aus dem IR-Überlagerungsspektrum (S. 75).

C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ .H ₂ O (466.39)	Trocknung 90°C/15 mm
ber. C 54.08 H 4.75	gef. C 53.80 H 4.91

UV-Spektrum Methanol p.a. c = 1.25 mg/100 ml

Max. I 257 m μ (log ϵ = 4.30)

Max. II 356 m μ (log ϵ = 4.18)

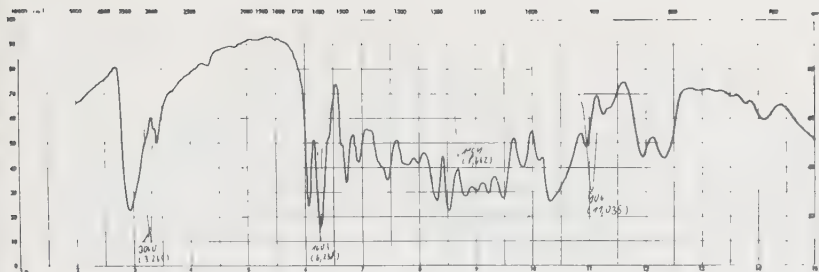


Abb. 6

IR-Spektrum von Kämpferol-3,7-dirhamnosid (Glykosid F)

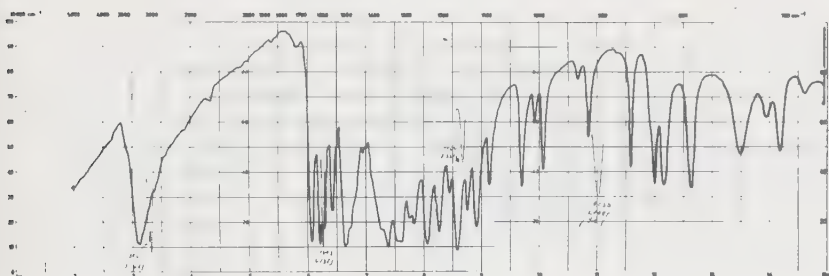


Abb. 7

IR-Spektrum von Isorhamnetin

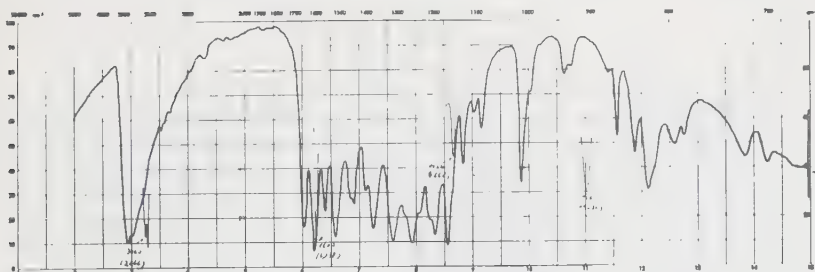


Abb. 8

IR-Spektrum von Quercetin

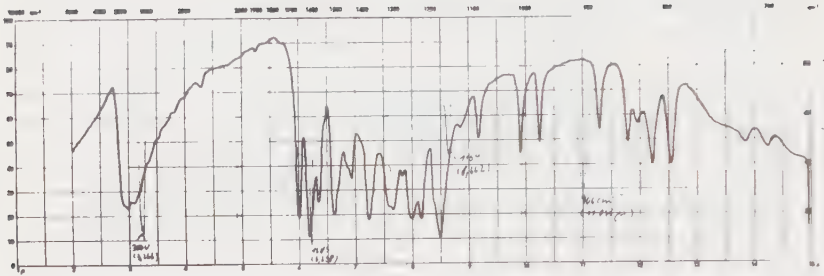


Abb. 9
IR-Spektrum von Kämpferol

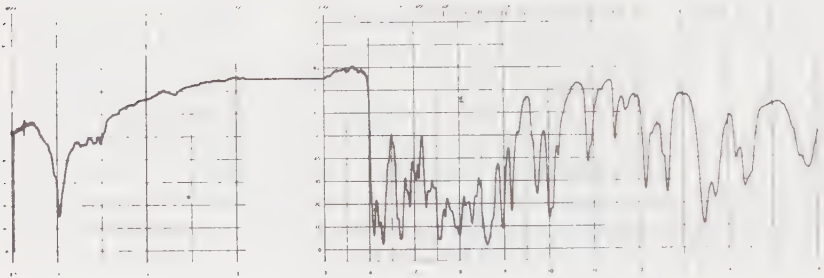


Abb. 10
IR-Spektrum von 4',7-Dibenzyl-isorhamnetin

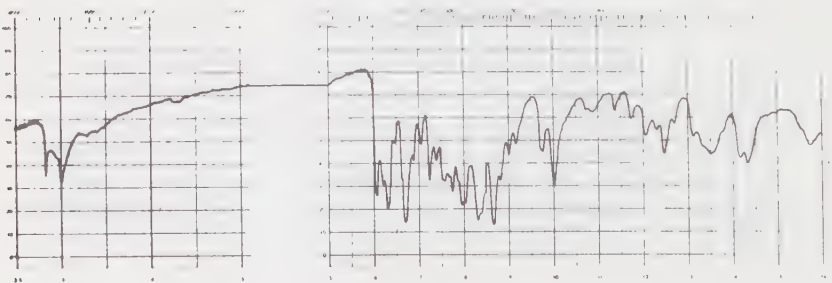


Abb. 11
IR-Spektrum von 4',7-Dibenzyl-quercetin

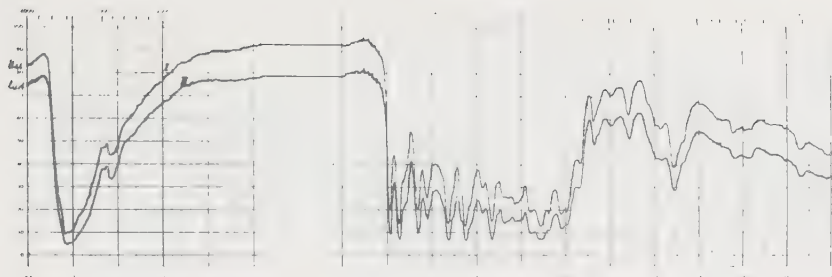


Abb. 12

IR-Überlagerungsspektrum von Glykosid C 2 (II) und synthetischem Quercetin-3-rutinosid (I)

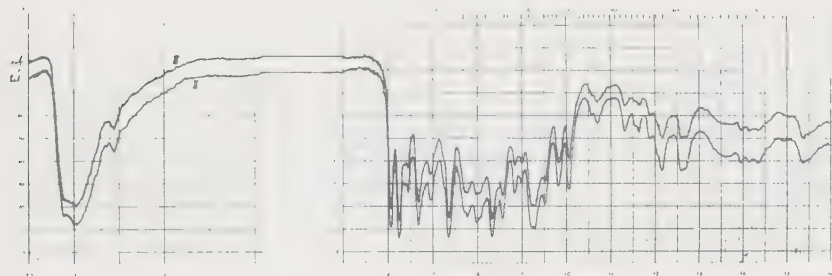


Abb. 13

IR-Überlagerungsspektrum von Glykosid B 1 (II) und synthetischem Quercetin-3-galactosid (I)

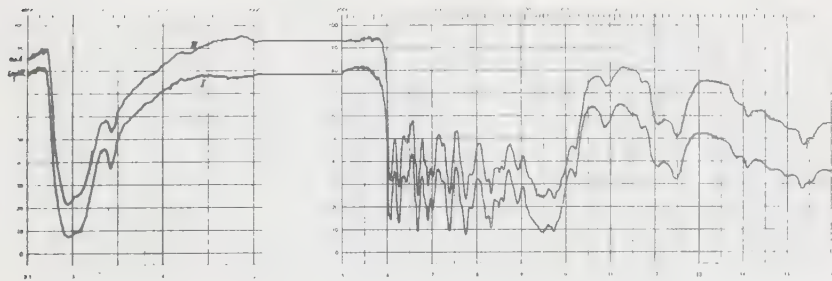


Abb. 14

IR-Überlagerungsspektrum von Glykosid D (II) und synthetischem Isorhamnetin-3-rutinosid (I)

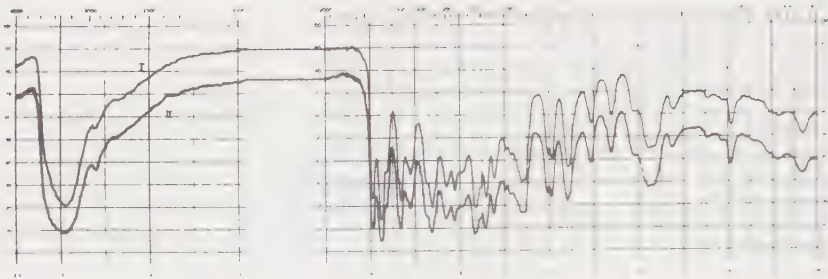


Abb. 15

IR-Überlagerungsspektrum von Quercitrin (II) und synthetischem Quercetin-3-rhamnosid (I)

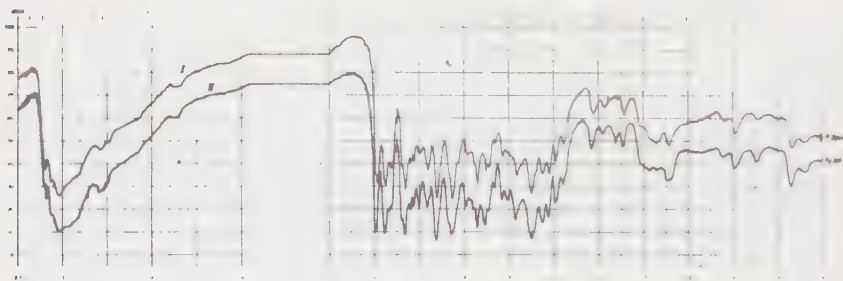


Abb. 16

IR-Überlagerungsspektrum von natürlichem (II) und synthetischem Isorhamnetin-3-glucosid (I)

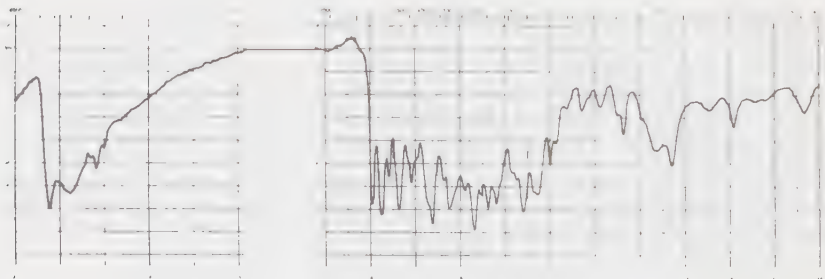


Abb. 17

IR-Spektrum von synthetischem Isorhamnetin-3-rhamnosid

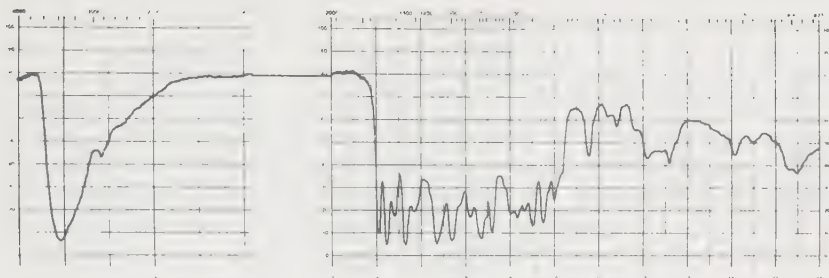


Abb. 18

IR-Spektrum von synthetischem Quercetin-3-xylosid

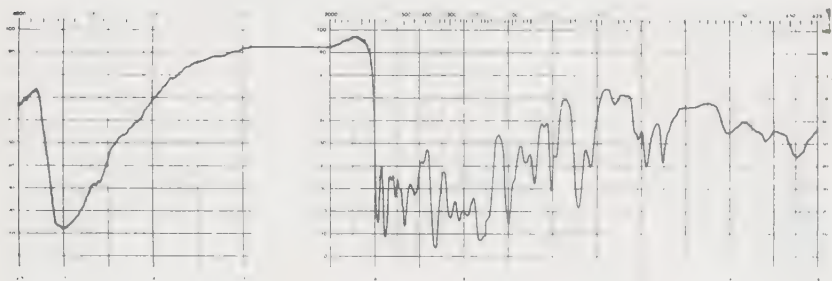


Abb. 19

IR-Spektrum von isoliertem "Quercetin-3-xylosid" (?) (Reynoutrin)

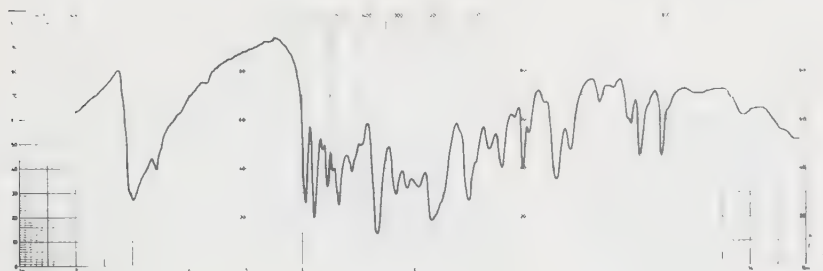


Abb. 20

IR-Spektrum von Avicularin (Quercetin-3-arabinosid)

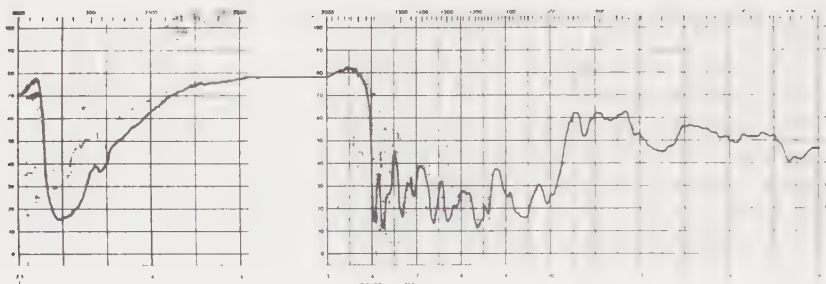


Abb. 21

IR-Spektrum von synthetischem Quercetin-3-glucosid

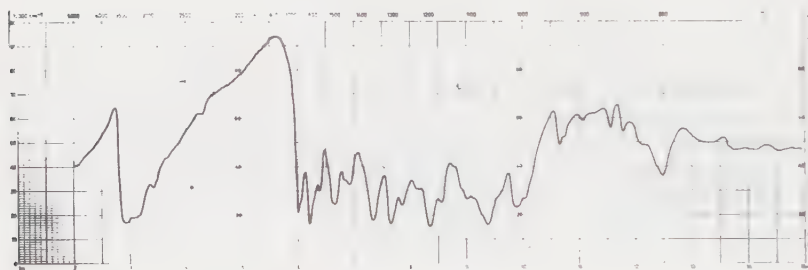


Abb. 22

IR-Spektrum von isoliertem Quercetin-3-glucosid

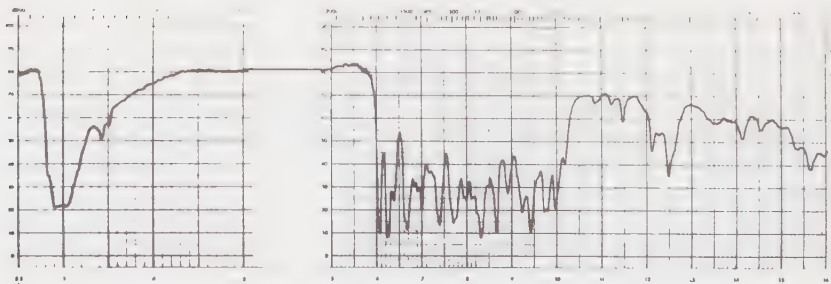


Abb. 23

IR-Spektrum von synthetischem Isorhamnetin-3-xylosid

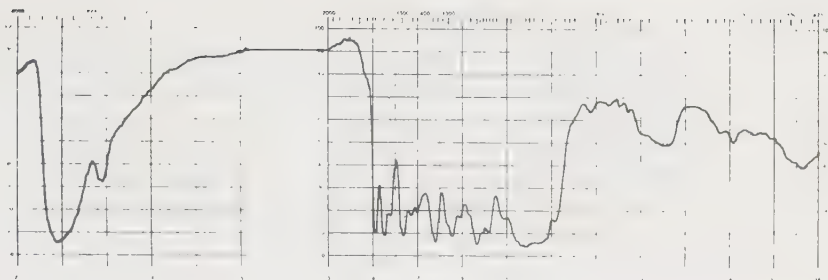


Abb. 24

IR-Spektrum von synthetischem Isorhamnetin-3-cellobiosid

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) G.MADAUS, Lehrbuch der Biologischen Heilmittel I, 754 (1938)
- 2) F.BERGER, Handbuch der Drogenkunde, 1, 229 (1949)
- 3) E.STEINEGGER u. R.HÄNSEL, Lehrbuch der Pharmakognosie, 205 (1963)
- 4) HAGER, Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Neuauflage in Vorbereitung
- 5) THOMS, Handbuch der praktischen und wissensch.Pharmazie Bd. 5 (1931)
- 6) E.JENEY u. J.URI, Pharmazie 2, 533 (1954)
- 7) K.BÖHM, Arzneimittelforschung 10, 547 (1960)
- 8) R.WILLSTATTER u. H.MALLISON, S.B.preuß.Akad.Wiss.Phys.math. Kl. 769 (1914)
- 9) K.TAUBÖCK, Naturwissenschaften 30, 439 (1942)
- 10) C.W.WILSON, J.Amer.chem.Soc. 61, 2303 (1939)
- 11) L.H.BRIGGS u. R.P.LOCKER, J.chem.Soc. (London) 3131 (1951)
- 12) L.HÖRHAMMER u. R.HÄNSEL, Arch.Pharm. 284/56, 276 (1951)
- 13) L.HÖRHAMMER u. K.H.MÜLLER, Arch.Pharm. 287/59, 310 (1954)
- 14) D.W.FOX, W.L.SAVAGE u. S.H.WENDER, J.Amer.chem.Soc. 75, 2504 (1953)
- 15) G.ZEMPLEN u. A.GERECZ, Chem.Ber. 71B, 2520 (1938)
- 16) T.KUBOTA u. T.HASE, J.chem.Soc.Japan, 77, 1059 (1956)
- 17) M.KOTAKE u. H.ARAKAWA, Naturwiss. 43/14, 327 (1956)
- 18) W.PROBST, Dissertation München (1958)
- 19) G.ZEMPLEN u. R.BOGNAR, Chem.Ber. 74, 1783 (1941)
- 20) L.STICH, Dissertation München (1958)
- 21) T.NAKACKI, J.pharm.Soc. Japan 63, 444 (1943)
- 22) G.FUKUCHI u. K.IMAI, J.pharm.Soc.Japan 70, 568 (1950)
ref. C.A. 45, 3999 (1951)
- 23) H.J.GEHRMANN, W.ENDRES u. R.COBET, Naturwiss. 42, 181 (1955)
- 24) T.NAKAOKI u. N.MORITA, J.pharm.Soc.Japan 78, 521 (1958)
- 25) L.HÖRHAMMER, R.HÄNSEL, G.KRIESNAIR u. W.ENDRES, Arch.Pharm. 288/60, 419 (1955)
- 26) B.HELFRICH, Ergebn.Enzymforsch. 2, 74 (1933)
- 27) B.Helfrich u. U.LAMPERT, Chem.Ber. 68, 1266 (1935)
- 28) M.BRIDEL u. C.BEGUIN, Bull.Soc.Chim.Biol. 8, 469 (1928)
- 29) G.TAPPI u. E.MENZIANI, Gazz.chim.ital. 85, 694 (1955)
- 30) H.FRIEDRICH, Arch.Pharm. 295, 464 (1962)
- 31) G.ZEMPLEN u. L.FARKAS, Chem.Ber. 76B, 1110 (1943)
- 32) R.BOGNAR u. V.SZABO, Acta Chimica Acad.Scient.Hungar. 4/2-4, 383 (1954)
- 33) G.ZEMPLEN u. R.BOGNAR, Chem.Ber. 75, 1043 (1942)
- 34) G.ZEMPLEN u. R.BOGNAR, ibid. 76, 773 (1943)
- 35) L.FARKAS, L.HÖRHAMMER, H.WAGNER, H.RÖSLER u. R.GURNIAC, Chem.Ber. 97, 1666 (1964)
- 36) L.HÖRHAMMER, L.FARKAS, H.WAGNER u. J.OSTERMAYER, Act.Chim. Acad.Scient.Hungar. 40, 463 (1964)
- 37) E.KÖNIGS u. L.KNORR, Chem.Ber. 34, 974 (1901)
- 38) E.FISCHER u. E.F.ARMSTRONG, ibid. 34, 2885 (1901)
- 39) B.TAKAHASHI, J.pharm.Soc.Japan 525, 969 (1925)
- 40) H.FORSTER u. J.H.GARDENER, J.Amer.chem.Soc. 58, 597 (1936)

- 41) G.ZEMPLEN u. A.MÜLLER, Chem.Ber. 62, 2107 (1929)
- 42) H.MÜHLEMAN, Pharmac.Act.Helv. 24, 315 (1949)
- 43) S.FUJISE u. S.MITUI, Chem.Ber. 71, 922 (1938)
- 44) Z.JERZMANOWSKA u. M.NICHALSKA, Roczniki Chem. 35, 89 (1961)
- 45) G.ZEMPLEN, Z.CSÜRÖS, A.GERECZ u. ST.ACZEL, Chem.Ber. 61, 2486 (1928)
- 46) C.H.ICE u. S.H.WENDER, J.Amer.chem.Soc. 74, 4606 (1952)
- 47) M.K.SCHACHOWA, G.I.SSAMOCZWAŁOW u. N.A.PREOBRAŠENSKI, J.General Chem. (U.d.S.S.R.) 32/94, 390 (1960); ref. C.A. 10583 (1960)
- 48) H.RÖSLER, Dissertation München (1959)
- 49) B.SALFNER, Dissertation München (1963)
- 50) L.JURD, J.Org.Chemistry 27, 1294 (1962)
- 51) M.BARCZAI u. F.KÖRÖSY, Nature (London) 165, 369 (1950)
- 52) D.KRÜGER u. W.ROMAN, Chem.Ber. 69, 1830 (1936)
- 53) E.FISCHER, M.BERGHAHN u. A.RABE, ibid. 53, 2372 (1920)
- 54) E.PASCU, J.Amer.chem.Soc. 52, 2571 (1937)
- 55) G.ZEMPLEN u. A.GERECZ, Chem.Ber. 70, 1099 (1937)
- 56) K.FREUDENBERG, A.NOE u. E.KNOFF, ibid. 66, 238 (1927)
- 57) O.HASSEL u. B.OTTAR, Acta Chem.Scand. 1, 929 (1947)
- 58) W.L.WOLFROM u. A.THOMPSON in W.PIGMAN, The Carbohydrates, 194 (1957)
- 59) H.BAUMANN u. W.PIGMAN, in ibid. 576 (1957)
- 60) W.PIGMAN, ibid. 35-49 (1957)
- 61) S.VEIBEL in E.BAMANN u. K.MYRBÄCK, Methoden der Fermentforsch. 2, 1776 (1941)
- 62) B.HELFRICH u. A.GNÜCHTEL, Hoppe-Seylers Z. 248, 85 (1937)
- 63) CH.E.SANDO, J.Biolog.Chem. 117, 45 (1937)
- 64) W.KLYNE, Biochem.J. 47, xli (1950)
- 65) W.RAHMAN u. M.ILYAS, J.Organ.Chemistry 27, 153 (1962)
- 66) T.NAKAOKI u. N.MORITA, J.pharm.Soc.Japan 76, 323 (1956)
- 67) T.A.GEISSMAN, Chemistry of Flavonoid Compounds 334 (1962)
- 68) L.HÖRHAMMER u. R.HÄNSEL, Arch.Pharm. 286/58, 447 (1953)
- 69) L.H.BRIGGS u. R.C.CAMBIE, Tetrahedron 3, 269 (1958)
- 70) R.WEIDENHAGEN in E.BAMANN u. K.MYRBÄCK, Methoden der Fermentforsch. 2, 1749 (1941)
- 71) S.VEIBEL in ibid. 2, 1761 (1941)

L e b e n s l a u f

Am 26. Januar 1938 wurde ich, Hans-Günter, Friedrich, Richard Arndt, als Sohn des Oberamtsrichters Fritz Arndt und seiner Ehefrau Elsa, geb. Günther, in Neidenburg (Ostpreußen) geboren.

Von 1944 - 1948 besuchte ich die Volksschule und anschließend zwei Jahre die Mittelschule. 1950 trat ich in die Oberschule für Jungen a.d.Hermann-Böse-Straße in Bremen ein, wo ich im Februar 1956 das Abitur ablegte.

Nach 2-jähriger Praktikantenzeit in der Löwen-Apotheke in Hildesheim nahm ich im Mai 1958 an der T.H. Karlsruhe das Studium der Pharmazie auf, das ich im Frühjahr 1961 mit dem pharmazeutischen Staatsexamen abschloß. Im April 1962 erhielt ich meine Bestallung als Apotheker.

Seit dem 23. August 1963 bin ich mit Frau Waltraud geb. Götz (Apothekerin) verheiratet.

Die vorliegende Arbeit begann ich am 1. Januar 1963 am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München. Sie wurde im März 1965 abgeschlossen.

